



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

PREVALÊNCIA DE DIROFILARIOSE FELINA NA REGIÃO DO SADO

CARLA DE ALMEIDA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Professor Doutor José Augusto
Farraia e Silva Meireles

Professora Doutora Maria Isabel
Ferreira Neto da Cunha Fonseca

Professora Doutora Berta Maria Fernandes
Ferreira São Braz

Dr.^a Ana Mafalda Lourenço Martins

ORIENTADOR

Professora Doutora Berta Maria Fernandes
Ferreira São Braz

CO-ORIENTADOR

Dr.^a Ana Mafalda Lourenço
Martins

2010

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

PREVALÊNCIA DE DIROFILARIOSE FELINA NA REGIÃO DO SADO

CARLA DE ALMEIDA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Professor Doutor José Augusto
Farraia e Silva Meireles

Professora Doutora Maria Isabel
Ferreira Neto da Cunha Fonseca

Professora Doutora Berta Maria Fernandes
Ferreira São Braz

Dr.^a Ana Mafalda Lourenço Martins

ORIENTADOR

Professora Doutora Berta Maria Fernandes
Ferreira São Braz

CO-ORIENTADOR

Dr.^a Ana Mafalda Lourenço
Martins

2010

LISBOA

Ao meu Pai

AGRADECIMENTOS

Gostaria de manifestar os meus sinceros agradecimentos a todos os que, de alguma forma, contribuíram para que a realização deste meu sonho se tornasse possível.

À minha Orientadora, Professora Doutora Berta Fernandes Ferreira São Braz pela inigualável ajuda e total disponibilidade demonstrada desde o início desta etapa, assim como a sua amabilidade, compreensão e calma transmitida em todos os momentos.

À minha co-orientadora, Dr.^a Ana Mafalda Lourenço Martins, pela ajuda no tema de trabalho, incentivo, bem como no apoio incansável de toda a logística necessária. Um obrigado também pelos seus excelentes ensinamentos ao longo de toda a componente prática do meu estágio curricular.

A toda a equipa de médicos Veterinários e auxiliares do Hospital Escolar da FMV, pela oportunidade de estágio concedida, aprendizagem proporcionada, ambiente de profissionalismo e simpatia. Um agradecimento especial ao Dr. Nuno Félix, Dr.^a Esmeralda Delgado, Dr. António Almeida e Dr.^a Joana Almeida pelo auxílio em certos procedimentos na realização do projecto.

Aos meus colegas estagiários, por toda a força, companheirismo e espírito de ajuda concedido.

Uma enorme gratidão à minha família “Açoreana”, pelo apoio incondicional nas fases mais difíceis, pela amizade demonstrada, pelos bons momentos e experiências vividas...sem estes Amigos, todo este percurso teria sido muito difícil! Simplesmente adoro-vos!

Aos meus restantes, mas não menos importantes, amigos, por me fazerem acreditar que consigo e que a amizade é o bem mais valioso que existe. Um especial agradecimento à Joana Ramos e Mafalda Pires na ajuda da realização desta dissertação.

A todas as clínicas e hospital participantes no estudo, à D. Ana pertencente à “AAAAM”, assim como aos proprietários dos animais objecto deste estudo, pela gentileza em colaborar. Um sincero obrigado!

Aos laboratórios IDEXX pela amabilidade em fornecer os testes, essenciais para a realização do estudo.

À minha mãe por todo o amor, paciência e dedicação ao longo de toda a minha vida e percurso académico. Obrigado por todos os esforços feitos e por acreditares em mim!

À minha sobrinha Joaninha...

Aos meus adoráveis animais, Josie e Tomás, pela demonstração de uma amizade tão pura. A todos os animais que passaram na minha vida e que me mostraram o quanto vale a pena dedicar-lhes uma vida!

Ao meu pai, a quem “devo” a paixão pelos animais. Apesar da dor imensa de não o ter a presenciar este momento tão importante para mim, sei que deve estar orgulhoso...porque foi por ele e para ele!

RESUMO

A Dirofilariose é uma doença parasitária transmitida por um vector e causada pelo nemátode da espécie *Dirofilaria immitis*. O cão é o hospedeiro definitivo do parasita, no entanto, tem sido relatado a ocorrência desta parasitose em outros animais, nomeadamente no gato doméstico.

Apesar de se tratar de uma doença emergente, bem conhecida da população Médico-Veterinária e proprietários quando ocorre em cães, é frequentemente subdiagnosticada na população felina. Para tal contribui a limitação dos testes de diagnóstico existentes e o facto de a doença apresentar na espécie felina sinais clínicos inespecíficos, muitas vezes transitórios ou até mesmo verificar-se a ocorrência de morte do animal sem confirmação da infecção. Também é frequente os animais apresentarem-se amicrofilarémicos e as alterações laboratoriais e radiográficas serem transitórias ou mesmo ausentes.

Estudos epidemiológicos já realizados noutros países confirmaram que em qualquer área onde existam cães infectados com o parasita, a doença pode ocorrer em gatos embora com uma menor taxa de incidência.

No presente trabalho foi realizado um rastreio de dirofilariose felina numa zona endémica para a dirofilariose canina, nomeadamente na região do Sado. Este foi um estudo pioneiro em Portugal, tendo sido usado pela primeira vez o teste de detecção de antígeno *D.immitis* “SNAP® Feline Triple®”, que apresenta elevada sensibilidade e especificidade. A amostra foi constituída por 86 gatos com mais de 6 meses de idade.

A prevalência de dirofilariose felina obtida neste estudo foi de 1,2% (1/86) e veio documentar pela primeira vez a existência da infecção felina na região do Sado.

Este estudo enfatiza a necessidade de sensibilizar os colegas veterinários e proprietários para esta doença e sua prevenção.

Palavras-chave: *Dirofilaria immitis*, Dirofilariose, gato, prevalência, Sado

“PREVALENCE OF FELINE HEARTWORM IN THE SADO REGION”

ABSTRACT

Heartworm is a parasitic disease transmitted by a vector and caused by a nematode of the *Dirofilaria immitis* species. The dog is the definitive host of the parasite, although it has been reported the occurrence of this parasitosis in other animals, namely the domestic cat.

Although it's an emerging disease, well known by the Veterinarian population and dog owners, it's frequently under diagnosed in the feline population.

The limitations of the existing diagnostic tests and the fact that this parasitic disease presents with unspecific signs in the feline specie, ranging from transient symptoms to sudden death, concur to the lack of knowledge about the feline infection. The amicrofilaremic state and the transient or absent laboratory and radiology changes are common.

Epidemiological studies conducted in some countries have confirmed that in any area where dogs are infected with the parasite, the disease may occur in cats but in a smaller incidence rate.

The present study performed a screening on the feline heartworm in an endemic area of canine heartworm, the Sado region. This was a pioneer study in Portugal because it used the high sensitivity and specificity “SNAP® Feline Triple®” *D. immitis* screening test, having as a sample population 86 cats over 6 months of age.

The prevalence of feline heartworm obtained in this study was 1,2% (1/86) documenting for the first time the existence of feline infection in the Sado region.

This study raises the need for awareness among fellow veterinarians and owners towards this disease and its prevention.

Key-words: *Dirofilaria immitis*, Heartworm, cat, prevalence, Sado

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT.....	iv
ÍNDICE GERAL	v
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. DIROFILARIOSE FELINA	5
1. Etiologia.....	5
2. Interacção <i>D.immitis</i> / <i>Wolbachia</i>	5
3. Ciclo biológico do parasita.....	6
3.1. Ciclo de vida: <i>D. immitis</i> no hospedeiro invertebrado	6
3.2. Ciclo de vida: <i>D. immitis</i> no hospedeiro vertebrado	7
3.3. Características dos vectores	8
4. <i>D.immitis</i> em felinos	10
5. Prevalência e incidência de Dirofilariose.....	12
5.1. Factores de susceptibilidade	15
5.1.1. Factores ambientais	15
5.1.2. Factores intrínsecos ao hospedeiro vertebrado	16
6. Fisiopatologia	17
6.1. Dirofilariose larvar pulmonar.....	18
6.2. Morte dos parasitas adultos	19
6.3. Importância da <i>Wolbachia</i> na fisiopatologia	20
7. Diagnóstico.....	21
7.1. Sinais clínicos.....	23
7.2. Testes serológicos.....	24
7.2.1. Testes para detecção de Anticorpos para <i>D.immitis</i>	25
7.2.2. Testes para detecção de antígeno de <i>D.immtis</i>	27
7.3. Testes para a detecção de microfilárias.....	29
7.4. Radiografia torácica.....	31
7.5. Ecocardiografia.....	33
7.6. Angiografia	34
7.7. Alterações sanguíneas laboratoriais	35
7.8. Lavagem broncoalveolar ou traqueal	36
7.9. Electrocardiograma (ECG)	36
7.10. Necrópsia	36
8. Diagnósticos diferenciais.....	38
9. Tratamento	38
9.1. Tratamento de suporte	39
9.2. Tratamento adulticida	40
9.2.1. Tiacetarsamida	41
9.2.2. Melarsomina	42
9.3. Tratamento microfilaricida	42

9.4. Tratamento anti- <i>Wolbachia</i>	43
9.5. Tratamento cirúrgico.....	44
10. Profilaxia	45
10.1. Ivermectina	46
10.2. Milbemicina Oxima	47
10.3. Selamectina.....	48
10.4. Moxidectina	48
11. Monitorização de gatos infectados	50
12. Prognóstico	51
13. Importância da Dirofilariose em Saúde Pública.....	52
III. PROJECTO SADO	57
1. Introdução e Objectivos.....	57
2. Materiais e métodos	58
2.1. Caracterização da área geográfica do estudo.....	58
2.2. Caracterização da população - alvo	58
2.2.1. Critérios de inclusão	58
2.2.2. Critérios de exclusão	59
2.2.3. Realização e análise dos inquéritos	59
2.3. Realização do projecto	59
2.4. Pesquisa de antígenos de <i>D. immitis</i> (SNAP® Feline Triple® Test) (anexo 2)	60
2.4.1. Interpretação dos resultados do teste	60
3. Resultados.....	61
3.1. Prevalências dos agentes etiológicos	61
3.2. Caracterização da amostra em estudo.....	61
3.2.1. Raça dos gatos da amostra.....	62
3.2.2. Idade dos gatos da amostra	62
3.2.3. Sexo dos gatos da amostra	63
3.2.4. Área de proveniência dos gatos da amostra	64
3.2.5. Habitat dos gatos da amostra.....	64
3.2.6. Contacto com outros animais e doença por FIV, FeLV ou Dirofilariose.....	66
3.2.7. Desparasitação externa.....	66
3.3 Caracterização do animal com resultado positivo à dirofilariose no teste SNAP® Feline Triple®.....	68
3.3.1. Exames complementares	69
a) Alterações laboratoriais sanguíneas	69
b) Testes para a detecção de microfilárias.....	72
c) Radiografia torácica	72
d) Ecocardiografia	73
e) Electrocardiograma	74
f) Exame oftalmológico	75
4. Discussão e conclusão	76
BIBLIOGRAFIA.....	87

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Casuística das consultas assistidas em medicina interna, de acordo com a especialidade	2
Tabela 2 – Directrizes para diagnóstico de dirofilariose em gatos	22
Tabela 3 - Comparação de desempenho dos testes de detecção de anticorpo de Dfel ..	27
Tabela 4 - Comparação de desempenho dos testes de detecção de antígeno de Dfel ...	28
Tabela 5 - Resultados do hemograma do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a <i>Dirofilaria immitis</i>	69
Tabela 6 - Resultados do leucograma do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a <i>Dirofilaria immitis</i>	70
Tabela 7 - Resultados das bioquímicas sanguíneas do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a <i>Dirofilaria immitis</i>	70

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição (em termos de horas) das actividades desenvolvidas na prática clínica	1
Gráfico 2 – Prevalência dos agentes etiológicos na amostra em estudo	60
Gráfico 3 – Caracterização da amostra em estudo de acordo com a raça.....	61
Gráfico 4 -. Caracterização da amostra em estudo de acordo com a idade	62
Gráfico 5 - Caracterização da amostra em estudo de acordo com o sexo.....	62
Gráfico 6 - Caracterização da amostra em estudo de acordo com o habitat	64
Gráfico 7 – Relação entre a prevalência de FIV e FeLV e o habitat dos animais	64
Gráfico 8 - Caracterização da amostra em estudo de acordo com o contacto com outros animais e se estes possuem alguma das doenças detectadas pelo teste	65
Gráfico 9 - Caracterização da amostra em estudo de acordo com a desparasitação externa e sua frequência de administração	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Dirofilaria immitis</i>	5
Figura 2 – Ciclo biológico do parasita	8
Figura 3 – Diferença entre uma artéria normal e uma artéria de um gato com Dirofilariose	18
Figura 4 -. Radiografia torácica de um gato com Dirofilariose	31
Figura 5 – Ecocardiografia de um gato com Dirofilariose	34
Figura 6 – Angiograma não selectivo de um gato com Dirofilariose	35
Figura 7 – Necrópsia de um gato com Dirofilariose	37
Figura 8 – Mapa com o número de animais da amostra distribuído pelas áreas de proveniência	63
Figura 9 - Teste SNAP® Feline Triple® do “Camões”	67
Figura 10 – Fotografias do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a <i>Dirofilaria immitis</i>	68
Figura 11 - Radiografia torácica do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a <i>Dirofilaria immitis</i>	71
Figura 12 - Ecocardiografia do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a <i>Dirofilaria immitis</i>	72
Figura 13 - Electrocardiograma do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a <i>Dirofilaria immitis</i>	74

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 - Capa do dossier entregue nas clínicas que participaram no “Projecto Sado” .	101
Anexo 2 – Apresentação e informação do projecto aos veterinários reponsáveis pelas clínicas que entraram no projecto	102
Anexo 3 – Panfleto entregue aos proprietários dos animais testados para a DFel	107
Anexo 4 - Termo de responsabilidade e certificado de autorização para assinatura dos proprietários dos animais testados para a DFel	109
Anexo 5 -. Inquérito distribuído aos proprietários dos animais testados para Dfel	110
Anexo 6 - Folha de resultados do teste SNAP® Feline Triple®	113

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
>	Maior
<	Menor
°C	Grau Celsius
µg	Micrograma
Ac	Anticorpo
Ag	Antigénio
AHS	American Heartworm Society
ASDI	Antígenos somáticos de adultos de <i>D.immitis</i>
BID	A cada doze horas
cm	Centímetro
Dfel	Dirofilariose felina
ECG	Electrocardiograma
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbant Assay
EUA	Estados Unidos da América
ICAM	Molécula de adesão inter-celular
IFN	Interferão
Ig G	Imunoglobulina G
IM	Intramuscular
IV	Intravenosa
kg	Kilograma
L1	Primeiro estado larvar
L2	Segundo estado larvar
L3	Terceiro estado larvar
mg	Miligramma
mm	Milímetro
PCR	“Polymerase chain reaction” (reacção em cadeia polimerase)
PECAM	Molécula de adesão celular endotelial plaquetária
PO	Por via oral
PSW	Proteína de superfície maior da <i>Wolbachia</i>
rPSW	Foma recombinante de proteína de superfície da <i>Wolbachia</i>
pv	Peso vivo
SC	Subcutâneo
SID	A cada vinte e quatro horas
Th1	Linfócitos T – helper do tipo 1
TID	A cada oito horas

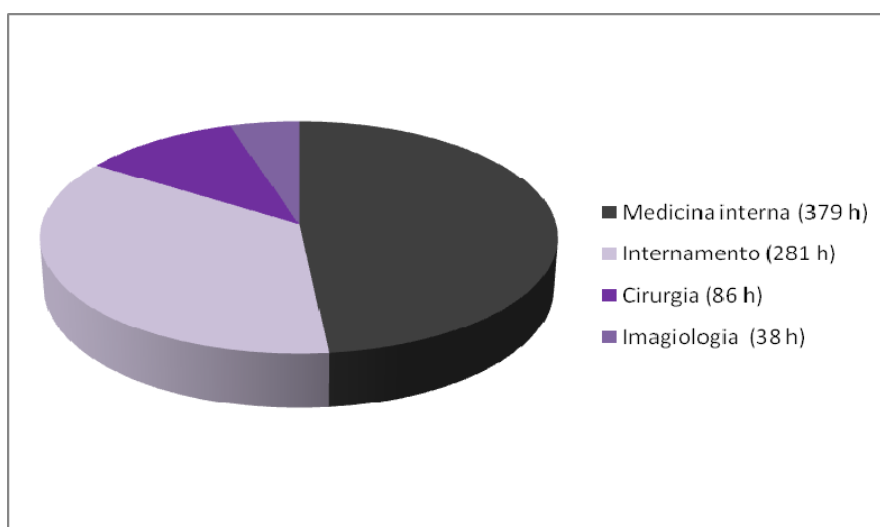
I. INTRODUÇÃO

O curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária culmina com a realização de um estágio curricular, que engloba uma componente prática, bem como a realização de uma dissertação e sua defesa em provas públicas.

O estágio curricular foi desenvolvido no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa, entre o dia 1 de Fevereiro de 2010 e o dia 31 de Maio de 2010, com uma carga horária total de 784 horas, na área de clínica de animais de companhia.

As actividades desenvolvidas durante a prática clínica consistiram na observação e participação nos serviços de Medicina Interna, Imagiologia, Cirurgia e Internamentos

Gráfico 1 – Distribuição (em termos de horas) das actividades desenvolvidas na prática clínica



No serviço de Medicina Interna foi permitido iniciar as consultas externas, em que a autora realizou a história pregressa e o exame físico detalhado do animal, seguidos pela apresentação do caso clínico ao Médico Veterinário responsável, e uma posterior discussão sobre os possíveis diagnósticos diferenciais, exames complementares a realizar, provável diagnóstico e terapêutica a instituir. Todas estas tarefas ajudaram a fundamentar a capacidade de comunicação da autora, tal como o nível de confiança e a aprendizagem da postura adequada em relação aos proprietários dos animais e todo o corpo clínico.

Ao longo do estágio foi proporcionada a oportunidade de realizar diversos procedimentos clínicos, como a colocação de cateteres endovenosos, recolha de amostras de sangue para posterior análise hematológica, bioquímica sanguíneas, medição de glicémia, assim como envio de amostras para laboratórios externos (para pesquisa de determinados agentes patogénios ou parâmetros hematológicos), medição de pressão arterial, algaliação de animais para recolha de urina e lavagens vesicais, realização de testes rápidos de

diagnóstico, preparação e administração de vacinas, realização de punções aspirativas por agulha fina e electrocardiogramas.

Em Patologia Médica, para além das consultas de carácter geral de primeira opinião, também houve possibilidade de assistir e participar activamente nas consultas de especialidade e referência, nomeadamente clínica de animais exóticos, ortopedia, oncologia, cardiologia, oftalmologia e dermatologia.

Uma vez que o estágio foi realizado sob a orientação científica da Dra. Ana Mafalda Lourenço Martins, que realiza as consultas de dermatologia, foi nesta área que a autora teve maior oportunidade de seguir os casos clínicos, e à qual dedicou cerca de 104 horas do seu estágio curricular, acompanhando as consultas semanais à segunda-feira, elaborando diversos procedimentos clínicos e abordagens terapêuticas nos diferentes casos específicos. Nesta área, realizou inúmeros procedimentos, tais como, citologias auriculares e cutâneas, tricogramas e sua visualização ao microscópio, biópsias de pele, pesquisa de dermatófitos, observação da execução de testes alérgicos intradérmicos, preparação e administração de imunoterapia, interpretação de testes endócrinos, observação da realização de videotoscopia, entre outros.

Houve também a oportunidade de receber formação na área da comunicação (communication skills) através da Dra. Ana Mafalda Martins.

Tabela 1 – Casuística das consultas assistidas em medicina interna, de acordo com a especialidade

Especialidade	Frequencia relativa (%)
Gastroenterologia	7,6
Nefrologia/Urologia	8,9
Dermatologia	22,1
Doenças Infecciosas	6,1
Cardiologia	5,3
Pneumologia	3,6
Oncologia	9,8
Reprodução e obstetrícia	4,3
Neurologia	3,7
Endocrinologia	3,5
Oftalmologia	5,1
Estomatologia	2,6
Imunoprofilaxia/desparasitação	10,3
Ortopedia e traumatologia	6,8
Comportamento animal	0,3

O internamento consistiu em turnos de 12 ou 24 horas, nos quais a aluna tinha sob sua responsabilidade os animais que se encontravam hospitalizados, com a competência de monitorizar os parâmetros clínicos, como a cor da mucosas, tempo de repleção capilar, frequência cardíaca e respiratória, pulso e temperatura corporal, tal como os cuidados de alimentação e de higiene, limpeza das jaulas e passeios dos animais ao exterior. Também era de sua responsabilidade cumprir a administração da medicação (via entérica, parentérica e ocular) prescrita a cada animal.

Duante o serviço de internamento participou ainda na discussão diária dos casos clínicos existentes, juntamente com os alunos de 4º e 5º anos e médico veterinário responsável.

No que diz respeito à imagiologia, a autora participou no posicionamento dos animais, selecção das constantes e análise e interpretação das radiografias, com o acompanhamento do médico veterinário. Também teve a oportunidade de assistir à realização e interpretação de outras técnicas imagiológicas, nomeadamente ecografias abdominais realizadas pela Dra. Joana Pontes, e ecocardiografias, realizadas pelo Dr. Nuno Félix, bem como tomografias axiais computadorizadas e mielografias.

No bloco cirúrgico, a autora acompanhou os pacientes antes, durante e após as cirurgias, realizando a avaliação pré-cirúrgica, preparando o paciente (colocação de catéter, entubação endotraqueal, tricotomia, desinfeção e limpeza da zona sujeita à incisão), administrando pré-medicações e induções anestésicas, monitorizando a anestesia, auxiliando durante a cirurgia e no recobro desta, efectuando as avaliações e os cuidados pós-cirúrgicos. As cirurgias observadas com maior frequência foram orquiectomias e ovariectomias electivas, tal como mastectomias secundárias a neoplasias mamárias, em cadelas e gatas.

O seguimento pós-operatório consistiu na remoção de pontos de sutura, aplicação de vários tipos de pensos e, por vezes, fisioterapia.

Toda a prática clínica acima mencionada permitiu à autora uma consolidação, integração e melhoramento dos conhecimentos adquiridos ao longo do seu percurso académico, a compreensão da sua importância no contexto real de trabalho, assim como uma aprendizagem de novos conhecimentos.

Quanto à revisão bibliográfica sobre dirofilariose felina, trata-se de uma pesquisa exaustiva do tema em livros e artigos científicos actualizados, tendo como principal objectivo a melhor compreensão da doença e o seu interesse em medicina veterinária. Devido à importância desta parasitose em canídeos na região do Sado, e tendo como base estudos epidemiológicos feitos noutros países, foi feito um estudo de despiste da dirofilariose felina, com o objectivo de determinar a sua prevalência na região e sensibilizar os colegas e proprietários para esta patologia e sua prevenção.

Até há muito pouco tempo não se encontravam disponíveis testes que nos permitissem realizar o diagnóstico da dirofilariose no gato, uma vez que estes animais possuem uma carga parasitária muito baixa, podendo os testes existentes para o cão serem ineficientes na detecção do parasita. Neste momento já existe um teste fidedigno, mais sensível, para a detecção de antígenos de dirofilaria em gato. Com o apoio dos laboratórios IDEXX, que forneceu os referidos Kits, foi testada uma amostra de 86 gatos residentes na zona do Sado, nomeadamente, Setúbal, Moita e Palmela, para a presença de Antígeno de *Dirofilaria immitis*.

A 16 de Março do corrente ano, foi dada a oportunidade à autora de apresentar o seu projecto numa aula da disciplina de Medicina II do 4º ano do curso de Medicina Veterinária, no âmbito do tema sobre patologia do aparelho respiratório.

A autora irá ser co-autora de um artigo a submeter ao “Veterinary Parasitology” sobre o estudo em curso.

II. DIROFILARIOSE FELINA

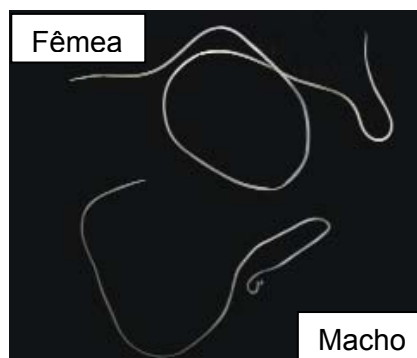
1. Etiologia

A dirofilariose apresenta como principal agente o nemátode *Dirofilaria immitis*, descrito pela primeira vez em 1856 por Leidy, pertencente ao gênero *Dirofilaria*, superfamília *Filarioidea*, família *Onchocercidae* e ordem *Spirurida* (Anderson, 2000 citado por Manfredi, Cerbo & Genchi, 2007).

Os adultos alimentam-se de plasma dos seus hospedeiros, sendo as fêmeas ovovíparas e libertando as larvas na corrente sanguínea do mesmo. Estas larvas, denominadas de microfírias, medem cerca de 290 a 330 μm de comprimento e 5 a 7 μm de largura, podendo sobreviver no sangue do hospedeiro entre dois a dezoito meses (Manfredi *et al.*, 2007).

Quanto à morfologia, os adultos são alongados, finos e esbranquiçados. As suas dimensões oscilam entre os 250 e 310 mm de comprimento e 1 a 1,3 mm de largura nas fêmeas, e 120 a 200 mm por 0,7 a 0,9 mm nos machos (Payne & Carter, 2005; Manfredi *et al.*, 2007). O corpo é revestido por uma cutícula lisa, apresentando sulcos e estrias apenas na face ventral da última espiral na cauda do macho (Uni & Takada, 1986, Lichtenfels *et al.*, 1987, citados por Manfredi *et al.*, 2007).

Figura 1 – *Dirofilaria immitis*: fêmea e macho adultos (adaptado de: Manfredi *et al.*, 2007)



2. Interacção *D.immitis*/Wolbachia

A maioria dos nemátodes filarídeos, incluindo *D.immitis*, hospeda bactérias intracelulares obrigatórias Gram-negativas, pertencentes ao gênero *Wolbachia* (ordem *Rickettsiales*) (Nelson *et al.*, 2007).

Tendo em conta que: 1) a prevalência de *Wolbachia* é 100% no parasita *D.immitis* (Lee, Lee, Choi & Hyun, 2008); 2) a evolução das bactérias corresponde à evolução do parasita, como mostram os estudos de filogenética; 3) a sua transmissão para a descendência é vertical, feita pelas fêmeas (Lee *et al.*, 2008); 4) a remoção de *Wolbachia*, por antibióticos ou através de radiação, leva à esterilidade dos parasitas do sexo feminino e eventual morte dos adultos (Kramer, 2006a), parece que a presença desta bactéria é essencial para a sobrevivência do parasita, ou seja, vivem em simbiose obrigatória (Bandi *et al.*, 2001, citados por Genchi, Bazzocchi, Kramer, Genchi & Bandi, 2005a). Para além disso, Kramer (2006a) faz referência ao facto de o genoma desta bactéria ser muito pequeno, o que também é consistente com a teoria da endossimbiose.

3. Ciclo biológico do parasita

Considera-se que a *Dirofilaria immitis* possui um ciclo de vida de 6 meses (Dillon, 2007).

O ciclo biológico apresenta cinco fases de desenvolvimento larvar, tendo um hospedeiro intermediário, que também actua como vector, e um hospedeiro definitivo vertebrado (Genchi *et al.*, 2009; Klotchko, 2010).

Os cães são os hospedeiros definitivos do parasita *D.immitis* (Manfredi *et al.*, 2007; Litster & Atwell, 2008b), actuando como reservatórios (Venco *et al.*, 2008b). No entanto, a ocorrência deste parasita tem sido relatada em lobos, cães selvagens, coiotes, raposas, felinos (incluindo o gato doméstico), pinípedes, mustelídeos (como por exemplo as doninhas), ursos, pandas, castores, coelhos, veados, cavalos, primatas não-humanos, bem como no Homem (Payne & Carter, 2005; Manfredi *et al.*, 2007; Klotchko, 2010).

Estudos experimentais têm demonstrado que nemátodes filarídeos podem desenvolver-se em numerosos artrópodes. Com base no conhecimento actual, somente os insectos, nomeadamente os mosquitos (ordem *Diptera*, subordem *Nematocera*, família *Culicidae*), actuam como vectores para a *D.immitis* (Cancrini & Gabrielli, 2007), sendo hospedeiros intermediários, tanto em cães, como em gatos (Litster & Atwell, 2008b).

3.1. Ciclo de vida: *D. immitis* no hospedeiro invertebrado

Os mosquitos infectam-se com as microfilárias ao alimentarem-se de sangue no hospedeiro vertebrado parasitado. As microfilárias ingeridas atravessam a faringe e alcançam o intestino médio do vector, onde permanecem cerca de 24 horas, migrando depois para as células da extremidade distal dos túbulos de Malpighi, tornando-se intracelulares. Aqui

ocorre a transformação para o primeiro estado larvar L1 (dia 2), depois em L2 (dia 9) e finalmente em L3 (dia 12). O terceiro estado larvar deixa os túbulos de Malpighi, migrando através do hemocélio, para chegar ao labium do aparelho bucal do mosquito (dia 15). Quando este pica um novo hospedeiro vertebrado, as L3 emergem do labium dobrado e penetram na pele do hospedeiro, imersas numa gota de linfa para evitar a desidratação e manter a sua mobilidade (Fülleborn, 1908, Ewert, 1967, Ewert & Ho, 1967, McGreevy *et al.*, 1974, citados por Theis, 2005; Cancrini & Gabrielli, 2007).

O mosquito tem a capacidade de transmitir um máximo de 10 a 12 L3 ao hospedeiro (Dillon, 2007).

3.2. Ciclo de vida: *D. immitis* no hospedeiro vertebrado

As L3 entram na solução de continuidade decorrente da picada do mosquito (Nelson, 1959, Nelson *et al.*, 1962, citados por Cancrini & Gabrielli, 2007) e penetram no tecido conjuntivo do vertebrado (Theis, 2005).

Dá-se então a muda da fase L3 para L4 e L5 (adultos) no tecido subcutâneo (Nelson, 2008), e a migração destas para as artérias pulmonares, aproximadamente 90 a 100 dias após a infecção. As L5 são distribuídas principalmente nas artérias pulmonares caudais e, nos 2-3 meses seguintes, desenvolvem-se em adultos sexualmente maduros, migrando em direcção ao ventrículo direito (Dillon, 2005; Dillon, 2007) ou permanecendo nos pulmões (Dillon, 2007; Nelson, 2008). Nos gatos, existe uma alta mortalidade das L5 iniciais, sendo frequente que nos 6 a 7 meses pós-infecção não existam adultos de *D. immitis* nos gatos (Dillon, 2007). Numa pequena percentagem de gatos, os parasitas tornam-se adultos, vivendo apenas 1 a 3 anos (Nelson, 2008).

Se ambos os sexos estiverem presentes, são produzidas microfírias, 6-7 meses após a exposição a L3, sendo detectadas no sangue dos cães, mas raramente em gatos.

Figura 2 – Ciclo biológico do parasita (adaptado de: <http://www.capcvet.org/>)



3.3. Características dos vectores

As espécies de mosquitos, assim como a sua densidade numa determinada área geográfica, são importantes na determinação do risco de infecção por *D. immitis*, e da prevalência de infecção em gatos (Kramer & Genchi, 2002).

Os Culicídeos têm uma distribuição cosmopolita, com mais de 3500 espécies em todo o mundo (Cancrini & Gabrielli, 2007). Cerca de 70 espécies de mosquitos têm a capacidade de permitir no seu interior o desenvolvimento das microfilárias para larvas infectantes (L3), mas menos de uma dúzia destas espécies são consideradas vectores importantes (Otto *et al.*, 1981, citados por Genchi, Guerrero, McCall & Venco, 2007a)

O elevado grau de capacidade de adaptação dos insectos tem garantido a sua presença em diferentes tipos de habitats (Cancrini & Gabrielli, 2007).

Em áreas tropicais os mosquitos encontram-se activos todo o ano. Nos climas temperados os adultos são activos durante o final da Primavera e Verão, apresentando diferentes ritmos sazonais de actividade. As alterações ambientais e climáticas em consequência do aquecimento global, nomeadamente o aumento previsto da temperatura média (0,2 ° C em

10 anos) (Genchi, Rinaldi, Cascone, Mortarino & Cringoli, 2005c), influenciam fortemente os padrões de actividade dos mosquitos em regiões temperadas (Cancrini & Gabrielli, 2007).

Os ritmos biológicos apresentados pelos mosquitos são normalmente resultado da co-evolução do parasita por eles transmitido, e portanto, geralmente correlacionados com o sucesso da infecção. Outros factores podem modular a expressão da actividade dos vectores, nomeadamente a idade do mosquito, sendo os mais velhos epidemiologicamente mais importantes em virtude da sua maior oportunidade de adquirir e transmitir agentes patogénicos (Nayar & Sauerman, 1973, citado por Cancrini & Gabrielli, 2007). O estado nutricional também afecta a intensidade dos picos de actividade, uma vez que um período de privação de sangue torna mais intenso o padrão de actividade do mosquito (Klowden, 1996 citado por Cancrini & Gabrielli, 2007). A receptividade à infecção e a eficiência do mosquito como vector para *D. immitis* também é determinada geneticamente, sendo controlada por um alelo recessivo ligado ao sexo (Zielke, 1973, McGreevy *et al.*, 1974, citados por Cancrini & Gabrielli, 2007).

Para Cancrini & Gabrielli (2007) as espécies de mosquitos mais eficientes na transmissão do parasita são as que se reproduzem activamente durante todo o ano ou mais vezes durante o verão e que fazem pelo menos duas refeições de sangue diárias.

São os mosquitos do sexo feminino os responsáveis pela transmissão da dirofilariose, pois alimentam-se de sangue, designando-se de hematófagos (Cancrini & Gabrielli, 2007).

A preferência alimentar dos mosquitos pode depender de vários factores, incluindo o seu comportamento, como já referido, e capacidade de atracção do hospedeiro.

Os mosquitos localizam os hospedeiros através do fototropismo e em resposta a estímulos químicos (dióxido de carbono e odor) produzidos pelo hospedeiro vertebrado (Cancrini & Gabrielli, 2007).

Estudos mostraram que, nas mesmas condições de campo, o cão atrai um maior número de *Aedes* e *Culex* comparativamente com o gato (Di Sacco *et al.*, 1994; Genchi *et al.*, 1992; Iori *et al.*, 1990; Pollono *et al.*, 1994; Labarthe *et al.*, 1998, citados por Cancrini & Gabrielli, 2007).

Num estudo efectuado no Brasil por Gomes, Serrão, Duarte, Bendas e Labarthe (2007), concluiu-se que os mosquitos dos géneros *Aedes* e principalmente *Culex*, tal como os géneros *Coquillettidia*, *Psorophora* e *Mansonia* alimentam-se tanto de sangue felino como de canino. Tendo em conta que os cães são os hospedeiros reservatórios de *D. immitis*, ou seja, a fonte das microfilárias, os géneros de mosquitos que se alimentam de cães e gatos são os responsáveis pela transmissão dos parasitas para gatos (McCall *et al.*, 1992, citado por Gomes *et al.*, 2007).

A preferência alimentar do insecto para cães e a consequente maior prevalência de infecção observada nestes (Cancrini & Gabrielli, 2007), é determinada em parte pelo facto do período

de repouso do canídeo coincidir com o período de maior actividade alimentar do mosquito (Labarthte *et al.*, 1998), ou seja, durante a noite. Relativamente aos felinos, o facto de serem caçadores nocturnos, em constante movimento, perturba a alimentação do mosquito (Labarthte *et al.*, 1998), privando-o do tempo de contacto necessário com o hospedeiro.

Em geral, é o vector, através de mecanismos próprios de defesa, que modera a invasão do parasita e permite o desenvolvimento de um número máximo de larvas infectantes compatível com sua sobrevivência (Cancrini & Gabrielli, 2007). A presença da armadura bucofaríngea é um dos mecanismos de defesa mais importantes (Coluzzi & Trabucchi 1968, citados por Labarthe, Serrão, Melo, Oliveira, & Lourenço-de-Oliveira, 1998), uma vez que destrói a cutícula das microfilárias quando estas atravessam a faringe (Coluzzi & Trabucchi, 1968, citados por Cancrini & Gabrielli, 2007; Zahedi & White 1994, citados por Gomes *et al.*, 2007). O tempo de coagulação do sangue durante a refeição é outro factor que influencia a competência vectorial, ou seja, se o sangue coagula rapidamente as microfilárias permanecem presas no coágulo, não atingindo os túbulos (Frizzi & Pedrotti, 1957; Grieve *et al.*, 1983, citados por Cancrini & Gabrielli, 2007). Assim, os mosquitos que produzem substâncias anticoagulantes são mais receptivos à infecção. O desenvolvimento de apenas um número limitado de larvas baseia-se também no facto de as microfilárias ingeridas pelos mosquitos migrarem do intestino para as células principais dos túbulos de Malpighi (Bradley *et al.*, 1984, citados por Lai, Tung, K., Ooi & Wang, 2000), onde, através do seu desenvolvimento, destroem as células primárias, interrompendo assim a excreção e a regulação de água e iões da hemolinfa. Um pequeno número de parasitas não afecta este sistema excretor dos mosquitos, mas uma carga parasitária elevada aumenta a possibilidade de destruição (Palmer *et al.*, 1986, citados por Lai *et al.*, 2000), aumentando assim a mortalidade dos mosquitos. Outro mecanismo de defesa, um pouco menos eficiente, baseia-se na capacidade do mosquito para controlar os tempos de desenvolvimento das larvas, tornando-os demasiado longos e inviabilizando o desenvolvimento das larvas em tempo de vida útil (Cancrini & Iori, 1981; Cancrini *et al.*, 1995, citados por Cancrini & Gabrielli, 2007)

4. *D.immitis* em felinos

O primeiro registo de infecção por dirofilária em gatos parece ter acontecido no Brasil, em 1921, por Travassos (Nelson, 2008), onde vem sendo actualmente diagnosticada com frequência (Labarthe, Ferreira, Guerrero, Newcomb & Paes-de-Almeida, 1997; Goodwin, 1998).

Apesar da *Dirofilaria immitis* ser o agente causal da dirofilariose, canina e felina (Kramer, 2007) existem, no entanto, diferenças significativas da doença nestas espécies (Nelson *et al.*, 2007). Nos cães, a infecção é crónica e leva a uma insuficiência cardíaca congestiva (Simón *et al.*, 2007b; Kramer, 2007), enquanto nos gatos o órgão mais frequentemente afectado é o pulmão (Levy, 2007a), possuindo uma resposta patológica mais exacerbada à presença dos parasitas e exibindo uma ampla variedade de sinais clínicos (Calvert *et al.*, 1994, citados por McTier *et al.*, 2000).

Embora os gatos sejam hospedeiros susceptíveis ao parasita, são mais resistentes à infecção por *D.immitis* adulto (Dillon, 1986, citado por Morchón *et al.*, 2004), comparativamente aos cães (ESCCAP, 2006; Nelson *et al.*, 2007; Venco, 2007; Atkins *et al.* 1996 citados por Litster & Atwell, 2008b).

Os gatos infectados geralmente têm menos dirofilárias adultas do que os cães uma vez que a maturação destes parasitas nesta espécie é mais lenta e menos eficaz. Também o tempo de sobrevivência dos parasitas é inferior em felinos (cerca de 1 a 3 anos) em comparação com os cães (5 a 7 anos) (Dillon, 1984; Calvert, 1989; McCall *et al.*, 1992; Atkins *et al.*, 1995, citados por Venco, 2007; AHS, 2010). Num estudo experimental, em que foram usados cães e gatos que nunca tinham sido expostos ao parasita, e que foram inoculados com 100 larvas L3, observou-se que em quase 100% dos cães se desenvolveram dirofilárias adultas, comparativamente a 75% dos gatos com cargas parasitárias muito inferiores. A maioria das infecções por dirofilária em gatos são relativamente leves, albergando normalmente menos do que seis parasitas adultos no ventrículo direito e artérias pulmonares (Litster & Atwell, 2008b), sendo que a maioria tem apenas um ou dois parasitas (Couto & Nelson, 2006, Nelson *et al.*, 2007). Segundo American Heartworm Society (AHS) (2010), foi demonstrado, através de vários estudos, que a percentagem de larvas L3 que se desenvolveu em adultos foi baixa (0% a 25%) em relação aos cães (40% a 90%). Também existe um prolongamento do período pré-patente no caso da infecção nos gatos (cerca de 7 a 8 meses) (Venco, 2007), ou seja, 1 a 2 meses a mais que nos cães (McCall *et al.*, 1994, citados por Litster & Atwell, 2008b).

Ainda assim, basta uma dirofilária para causar doença grave no animal (Prieto, Venco, Simón & Genchi, 1997; Genchi *et al.*, 1992a; McCall *et al.*, 1994, citados por Kramer & Genchi, 2002) e até mesmo a sua morte (Couto & Nelson, 2006) devido à forte resposta inflamatória e ao elevado tamanho, em termos de biomassa, do parasita comparativamente com a vasculatura pulmonar do felino (Al Genchi *et al.*, 1998, citados por Genchi *et al.*, 2007a).

O facto de a árvore arterial pulmonar felina ser menor, comparativamente com a do cão, e com uma consequente menor circulação contralateral, leva a que a embolização, mesmo

com um número reduzido de parasitas, possa produzir resultados desastrosos (Atkins, 2007c; Etingger, 2010).

Geralmente cerca de um terço dos parasitas são do mesmo sexo, sendo comum uma infecção uni sexo (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007). Por conseguinte, raramente são encontradas microfilárias circulantes em gatos infectados com *D.immitis*, e quando ocorrem, afectam menos de 20% dos animais (Miller, 1998). Quando a microfilarémia se desenvolve em gatos, normalmente é transitória (ESCCAP, 2006; AHS, 2010;) e com baixas concentrações (Donahoe, 1975, McCall *et al.*, 1994, citados por Miller, 1998), aparecendo apenas cerca de uma semana mais tarde do que em cães (no mínimo 195 dias pós-infecção), mas raramente persistem além dos 228 dias pós-infecção (Nelson *et al.*, 2007).

Experimentalmente foi demonstrado que quando são transferidas microfilárias de gatos para cães, existe novamente produção de microfilárias circulantes, o que indica que no gato poderá existir uma supressão reversível, possivelmente imuno-mediada, da produção de microfilárias (Levy, 2007a; Nelson *et al.*, 2007).

Outro indício de que o gato é um hospedeiro imperfeito para as dirofilárias é o facto de ocorrerem comumente migrações aberrantes das larvas do 4º estágio, nomeadamente para o cérebro, testículos e olhos (ESCCAP, 2009), nódulos subcutâneos, cavidades corporais e, ocasionalmente, para uma artéria sistémica, o que poderá dificultar a confirmação da infecção pela necrópsia (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007).

5. Prevalência e incidência de Dirofilariose

A distribuição da dirofilariose é ubíqua, sendo que atinge regiões tropicais, subtropicais e regiões temperadas (Lok, 1988 citado por Manfredi *et al.*, 2007). Segundo os dados epidemiológicos, a infecção parece estar a disseminar-se para áreas previamente consideradas livres da doença (Genchi *et al.*, 2005c).

A distribuição da dirofilariose não é homogênea, sendo observadas as maiores prevalências em vales de rios e áreas húmidas, onde as condições ambientais são mais favoráveis para a reprodução dos vectores (Muro, Genchi, Cordero & Simón, 1999). Existem casos relatados em muitas áreas do mundo, tal como, Brasil, Venezuela, Itália, Japão, Austrália, Filipinas, Malásia, Tahiti, Papua Nova Guiné, China, Serra Leoa, Arménia, Canadá, E.U.A, entre outros (Ryan & Newcomb, 1995, citados por Litster & Atwell, 2008b).

Trata-se de uma doença endémica em muitos países do Sul da Europa (Espanha, Itália, Portugal e França) (ESCCP, 2006; Trotz-Williams & Trees, 2003, Genchi *et al.*, 2005, citados por Genchi *et al.*, 2009), com casos dispersos na Grécia, Turquia e alguns países do Leste Europeu. Um número crescente de casos está a ser diagnosticado em países do

Norte da Europa, como Áustria, Alemanha e Holanda, em cães que foram importados da região do Mediterrâneo, ou que tinham acompanhado os seus proprietários para uma área endêmica (Genchi *et al.*, 2007a).

Segundo um estudo epidemiológico de Dirofilariose canina nas várias direcções regionais de agricultura de Portugal, foi encontrada uma prevalência global de microfilarémia de 14,1%. As prevalências menores localizavam-se no Norte de Portugal e as maiores no Sul, sendo a maior percentagem verificada na Região Autónoma da Madeira (30%) (Pereira da Fonseca, Madeira de Carvalho, Carvalho & Carvalho-Varela, 1991).

A prevalência em gatos é dependente da existência de uma população de cães microfilarémicos e de presença de mosquitos que se alimentam em ambas as espécies (Genchi *et al.*, 2009; Simón, Morchón, González-Miguel, Marcos-Atxutegi & Siles-Lucas, 2009). Assim, o conhecimento da prevalência regional de infecção por dirofilariose em cães pode ser útil na avaliação do risco para a infecção em gatos (Kalkstein, Kaiser & Kaneene, 2000).

Actualmente é aceite que, em qualquer área onde existam cães infectados com o parasita, a doença pode ocorrer em gatos (Guerrero *et al.*, 1992b; McCall *et al.*, 1994; Kramer & Genchi, 2002, citados por Genchi *et al.*, 2007a), mas em muito menor número (Dillon 1988, Elkins & Kadel 1988, citados por Labarthe *et al.*, 1998; Dillon, 1986, citados por Kramer & Genchi, 2002).

Acredita-se que a prevalência global da dirofilariose em felinos seja de 5% a 20% da que ocorre em cães na mesma área geográfica (Ryan & Newcomb, 1995, citados por Genchi *et al.*, 2007a; Levy, 2007a; Atkins, 2007a; Nelson, 2008; Simón *et al.*, 2009). Segundo European Scientific Counsel Companion Animal Parasites geralmente a prevalência em gatos é 10 vezes menor que a verificada em cães, nas áreas consideradas endêmicas (ESCCAP, 2009). Estudos de seroprevalência de anticorpos (Ac) específicos para *D. immitis*, realizados no norte de Itália, demonstraram que cerca de 16% dos gatos de estimação eram positivos (Kramer & Genchi, 2002). Luria e os seus colaboradores (2004) encontraram uma prevalência de *D. immitis* em gatos selvagens no Norte da Flórida (EUA) de 1,3% (7/553 gatos), utilizando testes de detecção de anticorpo (Ac) e antígeno (Ag). Miller, Atkins, Stemme, Robertson-Plouch & Guerrero (2000) demonstram que, numa grande população (2000) de gatos assintomáticos nos EUA, o risco total de exposição à infecção por dirofilariose é de cerca de 12%, mas varia conforme a área geográfica, de 5% a 33% (esta última na Califórnia, uma área específica do estado conhecida por ser endêmica para a dirofilariose canina). No Rio de Janeiro, Labarthe e os seus colaboradores (1997) obtiveram uma prevalência de 0,80% (1/125 gatos).

A prevalência de Dirofilariose em gatos (0,9%) aproxima-se da verificada em infecções pelo Vírus da Leucemia Felina (FeLV) (1,9%) e Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) (1%) em

populações comparáveis (Atkins, 2005b; Atkins & Paul, 2006; Lorentzen & Caola, 2008). Num estudo efectuado por Levy (2007c), a seroprevalência de antígenos de *D. immitis*, antígenos de FeLV e anticorpos de FIV em gatos foi de 4,0%, 2,6% e 3,6%, respectivamente, ou seja, a prevalência de dirofilariose felina (DFel) chegou mesmo a exceder a verificada nas viroses felinas. No estudo executado por Nelson e Young (1998, citados por Miller, 1998) observou-se que os gatos infectados com FIV tinham uma incidência significativamente maior de anticorpos circulantes anti-*D. immitis* que a restante população, levando os autores a sugerir que os gatos com risco de exposição a FIV também apresentam um maior risco de exposição a *D. immitis*. No entanto, em estudos posteriores não houve qualquer tipo de associação entre a infecção por *D. immitis* e co-infecções por FIV ou FeLV, e actualmente sabe-se que estes vírus felinos não aumentam o risco de infecção pelo parasita da dirofilariose (Levy *et al.*, 2003; Levy, 2007a; Levy, 2007b).

Acredita-se que a prevalência e distribuição da dirofilariose em felinos estejam a aumentar (Guerrero *et al.*, 1992b, citados por Labarthe *et al.*, 1998; Litster & Atwell, 2008b). Estudos publicados sugerem que, nos EUA, apesar de existir uma taxa relativamente constante da prevalência de dirofilariose em cães, o diagnóstico do número de gatos infectados tem vindo a aumentar. Este aumento reflecte, aparentemente, a maior consciencialização por parte dos veterinários e dos proprietários dos animais, ou até mesmo a melhoria gradual dos meios de diagnóstico disponíveis (Brown & Thomas 1998, citados por Litster & Atwell, 2008b).

A verdadeira prevalência da infecção em gatos é desconhecida e provavelmente sub-diagnosticada devido às limitações do diagnóstico ainda existentes e à maior tendência dos gatos em exibir sinais clínicos muitas vezes transitoriamente ou até mesmo morrerem sem confirmação da infecção (Nelson *et al.*, 2007; Atkins *et al.*, 1996 citados por Litster & Atwell, 2008b; Venco Genchi, Genchi, Grandi & Kramer, 2008a).

Para alguns autores a avaliação da real prevalência da infecção em felinos está dificultada pelo uso limitado do meio imagiológico ecográfico, que é altamente sensível para confirmar a infecção, e também da dificuldade associada à realização de um grande número de necrópsias numa população homogénea de gatos (Kramer & Genchi, 2002). Adicionalmente, o teste de detecção de antígeno é positivo em apenas 35% dos gatos assintomáticos e 70% dos gatos com sinais clínicos da doença. A detecção de anticorpos circulantes contra a *D. immitis* tem sido o método de escolha para estudos epidemiológicos de dirofilariose felina (Genchi *et al.*, 1998; Miller *et al.*, 1998; Watkins *et al.*, 1998, citados por Kramer & Genchi, 2002).

5.1. Factores de susceptibilidade

5.1.1. Factores ambientais

Como anteriormante referido, a frequência de transmissão e disseminação do *Dirofilaria spp.* depende de factores ambientais, tais como a temperatura e a densidade da população de vectores. No entanto, factores sócio-económicos são igualmente importantes, tal como a densidade e a circulação de cães microfilarémicos, devido ao turismo ou adopção e deslocação de/para áreas endémicas (ESCCAP, 2009).

É fundamental a existência de um clima que proporcione uma temperatura e humidades adequadas para sustentar uma população viável do mosquito vector e manter uma temperatura suficiente para a maturação de microfilárias a L3 dentro do hospedeiro intermediário (Nelson *et al.*, 2007).

A temperatura ambiente mínima para o desenvolvimento das larvas no mosquito, para a fase infecciosa é definida por UDD (unidades de desenvolvimento de *D. immitis*), expresso em graus/dias (em °C) (Atkins & Paul, 2006), sendo a quantidade cumulativa de calor requerida para se completar a incubação, o denominador crítico. (Genchi *et al.*, 2007a; Genchi *et al.*, 2009). Para o desenvolvimento das larvas infectantes, é necessário um total de 130 UDD, devendo este ser atingido em 30 dias (esperança de vida de um mosquito fêmea) (Lok & Knight, 1998 citados por Genchi *et al.*, 2009). A título de exemplo, se a temperatura média for de 16°C, por exemplo, as larvas L3 levam cerca de 65 dias para se desenvolver, tornando-se assim impossível a transmissão. (Atkins & Paul, 2006). Por outro lado, uma temperatura média de 30°C permite a muda das L3 em aproximadamente 8 dias (Genchi *et al.*, 2009) o que é viável com a expectativa de vida do mosquito (Atkins & Paul, 2006). O desenvolvimento larvar tem um tempo mínimo necessário de 8 dias se a temperatura for 28-30°C e máximo de 20 dias a 22°C (Genchi, 2007).

Para que o desenvolvimento se inicie, o limite de 14 °C deve ser excedido explicando assim a ocorrência de dirofilariose predominantemente nas regiões mais quentes (Klotchko, 2010). Um relatório recente do Painel Intergovernamental sobre Mudança Climática estima o aquecimento global em curso a quase 0,8 ° C (IPCC, 2007, citado por Genchi *et al.*, 2009). Esta mudança climática tem um potencial significativo para intensificar as doenças transmitidas particularmente por vectores (Khasnis & Nettleman, 2005; Rinaldi *et al.*, 2006, citados por Genchi *et al.*, 2009), uma vez que os artrópodes hematófagos possuem uma temperatura interna grandemente afectada pela temperatura ambiente (Genchi *et al.*, 2009). Um aumento na média da temperatura tende a alargar as zonas de risco para a infecção,

contribuindo assim para um aumento na taxa de prevalência da Dirofilariose (ESCCAP, 2009).

Genchi e os seus colaboradores (2005c) elaboraram um modelo para estimar a época de transmissão da dirofilariose em cada país da Europa. Trata-se de um sistema de informação geográfica baseado em dados térmicos e nas características dos vectores. Os resultados do modelo mostraram que a transmissão de Dirofilariose na Europa é marcadamente sazonal, com picos no Verão, sendo Julho o mês com maior número de dias cuja temperatura se apresentou adequada para a transmissão (Genchi *et al.*, 2009). Em Portugal a época de transmissão para a dirofilariose obtida foi de 11 de Junho a 20 de Outubro em Lisboa, e 31 de Maio a 20 de Outubro em Portalegre (Genchi *et al.*, 2005c).

5.1.2. Factores intrínsecos ao hospedeiro vertebrado

Actualmente, muitos gatos domésticos têm um modo de vida mais protegido que a maioria dos cães, dado estarem muitas vezes confinados em ambientes fechados. No entanto, a menos que o ambiente doméstico ofereça uma barreira efectiva à entrada de mosquitos, estes gatos, chamados “indoor”, também podem estar em risco de infecção (Nelson *et al.*, 2007), apesar de o maior risco estar sempre associado ao habitat exterior (Atkins, DeFrancesco, Coats, Sidley & Keene, 2000; Miller *et al.*, 2000; AHS, 2010). Manter o animal confinado ao interior de uma casa não é uma medida de protecção para a infecção, uma vez que existem relatos que aproximadamente um terço dos gatos com dirofilariose vive dentro de casa, sem acesso ao exterior (Couto & Nelson, 2006). Num estudo retrospectivo citado por Nelson e seus colaboradores (2007), cerca de 25% dos gatos com *D.immitis* adultos, foram considerados gatos de interior. Um estudo, realizado por Roncalli, Yamane e Nagata (1998) no Japão, revelou que as taxas de prevalência da infecção por dirofilariose felina variam entre 0,5% e 9,5% em gatos vadios e 3,0% a 5,2% em gatos domésticos. Actualmente acredita-se que os animais que possuem um estilo de vida ao ar livre possuem duas vezes maior probabilidade de serem expostos à infecção. No entanto, é importante salientar que o maior risco é a exposição, o que não corresponde necessariamente a um aumento de risco de desenvolver uma infecção (Miller *et al.*, 2000). Um facto que sustenta a prevalência de dirofilariose em gatos “indoor” é a existência de mosquitos com características endófilas (por exemplo o *Culex quinquefasciatus*), ou seja, que têm a capacidade de entrar em habitações para se alimentar, podendo infectar um animal que nunca teve acesso ao exterior (Labarthe *et al.*, 1998).

Kramer & Genchi (2002) efectuaram um estudo epidemiológico no norte de Itália, com levantamento serológico para a presença de anticorpo anti-*Dirofilaria immitis* em felinos, e

constataram que os gatos machos estavam em maior risco, com um maior número de testes positivos. À mesma conclusão chegaram Levy e os seus colaboradores (2003) num estudo efectuado no Norte da Flórida, e Atkins, Moresco e Litster (2005a), na Carolina do Norte. No entanto, relatos clínicos recentes sugerem que o sexo masculino não é um factor de risco para a dirofilariose em gatos (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007).

A maioria dos casos relatados tem ocorrido em gatos com 3 a 6 anos de idade, embora gatos com qualquer idade sejam susceptíveis (Payne & Carter, 2005; Couto & Nelson, 2006). De acordo com Levy (2007b), existem casos relatados em gatos a partir dos nove meses até aos 19 anos de idade, sendo a média de idade, no momento de diagnóstico ou morte, de quatro anos. Venco e os seus colaboradores (2008b) constataram que a idade média e mediana dos gatos infectados por dirofilariose numa área endémica é elevada (9 e 10,5 anos, respectivamente), sugerindo que quanto mais tempo um gato vive numa área de risco, maior é o risco de infecção.

Tanto gatos com pêlo longo como curto são diagnosticados para a dirofilariose, e não há sensibilidade de raça evidente (Levy, 2007b). No entanto, segundo Atkins e seus colaboradores (2000) e Couto e Nelson (2006), gatos domésticos de pêlo curto parecem estar super-representados nos perfis de incidência.

Assim, com base em estudos clínicos serológicos e estudos retrospectivos, pode-se concluir que não existe evidência de predisposição para sexo, idade ou raça para a infecção por *D. immitis* em gatos (Miller, Zoran, & Relford, 1998, Atkins, DeFrancesco, & Coats, 1998, citados por Miller, 1998).

6. Fisiopatologia

A importância clínica da dirofilariose em felinos é elevada, porque mesmo um pequeno número de parasitas adultos, ou até mesmo larvas imaturas, são potencialmente fatais para o gato (AHS, 2010; Nelson *et al.*, 2007).

Existem duas fases críticas da doença, nas quais se desenvolvem sinais clínicos: 1) chegada das dirofilárias imaturas à vasculatura pulmonar e 2) morte dos parasitas adultos (Nelson *et al.*, 2007; Litster & Atwell, 2008b).

Os sinais clínicos associados com a morte das larvas L5 ou com a presença de adultos nas artérias pulmonares de gatos infectados com *D. immitis* é denominada de “Doença Respiratória Associada à Dirofilariose” (AHS, 2010; Nelson *et al.*, 2007).

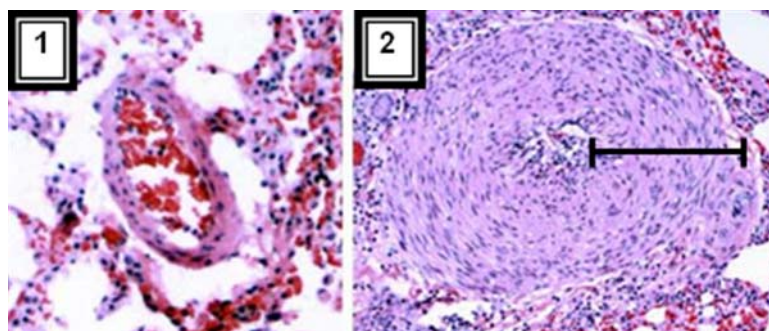
6.1. Dirofilariose larvar pulmonar

A primeira fase coincide com a chegada das L5 às artérias e arteríolas pulmonares, aproximadamente 3 a 6 meses pós-infecção. O parasita larvar (L5, com cerca de 1,5 cm) é ejetado da via de saída pulmonar, ficando a maioria alojado nos ramos caudais das artérias pulmonares (Dillon, 2007). Por conseguinte, os primeiros sinais da parasitose iniciam-se nos 3 a 6 meses após infecção (Dillon, 2005).

Ocorre uma estimulação da activação de macrófagos intravasculares pulmonares, existentes no leito capilar pulmonar dos felinos, mas não dos caninos (Dillon, 2007; Nelson *et al.*, 2007). Quando estimulados, os macrófagos causam inflamação aguda nas artérias e tecidos pulmonares, fatal em alguns gatos (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007).

A lesão vascular causa proliferação da íntima, hipertrofia muscular da túnica média e infiltrado celular inflamatório (eosinófilos e neutrófilos) da adventícia nas artérias pulmonares acometidas, com consequente estreitamento do lúmen e tortuosidade da artéria pulmonar (Atkins, 2007c) sendo mais severa nas artérias pulmonares caudais (Dillon, 1998, citado por Grandi, Zivicnjak & Beck, 2007). As superfícies arteriais observadas em microscópio electrónico de varredura apresentam numerosa e exuberante proliferação (Rawlings, Farrel, & Mahood, 2008). Contudo estas lesões histológicas já foram documentadas em gatos livres de *D. immitis*, logo não são patognomónicas de DFel (Rogers, Bishop, & Rohovsky, 1971, citados por Miller, 1998).

Figura 3 – Diferença entra uma artéria normal (1) e uma artéria de um gato com Dirofilariose (2). Observar nesta última o espessamento e hipertrofia da parede (segmento de recta) (adaptado de Levy, 2007a)



As lesões tendem a ser focais, não se determinando assim hipertensão pulmonar clinicamente relevante. Consequentemente, a hipertrofia ventricular direita e insuficiência cardíaca direita são pouco comuns em gatos (Couto & Nelson, 2006; Dillon, 1998; Genchi *et al.*, 1995, citado por Grandi *et al.*, 2007; Nelson *et al.*, 2007).

A nível pulmonar, a presença de parasitas produz um infiltrado eosinofílico no parênquima (Pneumonia), vasculatura pulmonar e alvéolos. Tipicamente, a citologia broncoalveolar revela uma reacção eosinofílica, porém, a eosinofilia periférica pode ou não estar presente (Dillon, 2005).

Pode ocorrer edema pulmonar, considerado por alguns autores como parte de uma síndrome de dificuldade respiratória aguda associada à dirofilariose (ARDS) (Atkins, 2007c). Esta fase inicial é muitas vezes diagnosticada como asma (Rozanski, 2008) ou bronquite alérgica devido à semelhança clínica e histopatológica, bem como à resposta à corticoterapia (Dillon, 2007; Nelson *et al.*, 2007). Adicionalmente, poderá ocorrer a ausência de antígenos no sangue nesta fase inicial da doença, o que condiciona a falsos negativos nas serologias realizadas (Dillon, 2007).

Na fase adulta, o parasita adquire a capacidade de suprimir a função dos macrófagos intravasculares (Dillon, 2007; Dillon, Warner, Brawner, Hudson & Tillson, 2008), através da libertação de substâncias directamente para o leito capilar (Loke *et al.*, 2000 citados por Dillon *et al.*, 2008). A atenuação da fagocitose leva à diminuição da lesão pulmonar aguda (Dillon *et al.*, 2008), tendo como consequência a recuperação de alguns gatos (Couto & Nelson, 2006). O animal continuará no entanto a apresentar os achados radiográficos e histológicos clássicos de dirofilariose, mas os sinais clínicos poderão estar ausentes ou ser intermitentes (Dillon, 2005), entrando assim numa fase sub-clínica (Levy, 2007a; Litster & Atwell, 2008b).

Atkins e os seus colaboradores (2005a) sugerem que, para os gatos que tenham sido expostos a L3 de *D.immitis* (com teste de Ac positivo), e que apesar de apresentarem lesões pulmonares, tenham debelado a infecção, seja empregue o termo “dirofilariose larvar pulmonar”.

6.2. Morte dos parasitas adultos

A segunda fase da doença inicia-se com a morte de um parasita adulto (Prieto *et al.*, 1997; Nelson *et al.*, 2007; Nelson, 2008).

A causa da aguda e, muitas vezes fatal, crise de dificuldade respiratória verificada em muitos gatos 4 a 9 meses pós-infecção (Couto & Nelson, 2006), é decorrente da lesão pulmonar associada à morte e degeneração de parasitas adultos nas artérias pulmonares (Dillon, 2005; Dillon, 2007; Grandi *et al.*, 2007; Nelson *et al.*, 2007). Estes causam recrudescência da inflamação pulmonar e tromboembolismo uma vez que despoletam uma exacerbada adesão plaquetária, proliferação da íntima, hipertrofia da vilosa, arterite granulomatosa, edema perivascular e hemorragia. O fluxo sanguíneo pulmonar obstruído e

a alta resistência vascular elevam a tensão ventricular direita e o consumo de oxigénio, podendo resultar em insuficiência cardíaca, hipotensão e isquémia miocárdica (Couto & Nelson, 2006).

Se o gato sobreviver à morte dos parasitas poderá continuar a manifestar sinais clínicos decorrentes de lesões pulmonares crónicas (Guerrero, 2005; Couto & Nelson, 2006; Atkins, 2007c; Nelson, 2008). O resultado final é uma doença respiratória crónica em que existe uma função pulmonar diminuída, hipóxia, dispneia e tosse (Atkins, 2007c).

Nos cães, a Síndrome da Veia Cava resulta da deslocação de elevado número de dirofilárias para a veia cava e junção atrioventricular direita, interferindo com a função da válvula tricúspide. Apesar de esta síndrome estar descrita em gatos (Strickland, 1998), raramente ocorre porque estes animais encontram-se normalmente infectados com um número reduzido de parasitas. No entanto, mesmo um ou dois parasitas podem causar regurgitação da tricúspide que resulta em sopro cardíaco (Nelson *et al.*, 2007).

6.3. Importância da *Wolbachia* na fisiopatologia

A interação entre *Wolbachia* e o sistema imunitário humoral dos hospedeiros infectados com diferentes espécies de filarídeos tem sido relatada por vários autores (Bazzocchi *et al.*, 2000; Pundowsky *et al.*, 2003; Simón *et al.*, 2003; Brattig *et al.*, 2004; Morchon *et al.*, 2004; Kramer *et al.*, 2005 citados por Kramer, 2006b). Estudos recentes descobriram que as bactérias simbióticas *Wolbachia* podem desempenhar um papel importante na patogénese e na resposta imune à infeção (Lee *et al.*, 2008), tal como o próprio parasita (Simón *et al.*, 2008).

Alguns estudos demonstraram que a Proteína de Superfície maior de *Wolbachia* (PSW) induz uma resposta imunitária específica por IgG no hospedeiro infectado por *D. immitis* (Bazzocchi *et al.*, 2000; Morchon *et al.*, 2004 citados por Simón *et al.*, 2007b). Esta resposta é predominantemente do tipo Th1 (Marcos- Atxutegui *et al.*, 2003), com produção de IFN- γ (Brattig *et al.* 2001, Taylor *et al.*, 2001; Marcos- Atxutegui *et al.*, 2003, citados por Morchón *et al.*, 2004; Genchi *et al.*, 2005a), bem como uma intensa expressão da sintase do óxido nítrico induzida (iNOS), com a produção de óxido nítrico (NO) (Morchón *et al.*, 2007b; Simón *et al.*, 2008; Simón *et al.*, 2009).

Num estudo, verificou-se que cerca de 50% dos gatos com anticorpos anti-*D.immitis*, mas sem a presença de parasita adulto, apresentavam lesões pulmonares, sugerindo assim que, mesmo em situações de infeções transitórias, existe permanente patologia pulmonar (Kramer, 2007). À luz dos recentes dados da simbiose *Wolbachia* com o filarídeo, conclui-se que a bactéria exerce os seus efeitos inflamatórios mesmo após a eliminação do parasita no

hospedeiro, e que a persistência das evidências de patologia pulmonar tem maior relação com a presença da *Wolbachia* do que com o próprio parasita (Kramer, 2007).

Num estudo citado por Kramer (2006b), foi avaliada a resposta de anticorpos contra moléculas específicas de *D. immitis* e *Wolbachia* em gatos infectados experimentalmente, com e sem tratamento larvicida (ivermectina). Neste estudo foi observado um aumento da produção de anticorpos contra os péptidos *D.immitis* e PSW (Morchón *et al.*, 2004; Kramer, 2006b) em gatos não sujeitos ao tratamento. No entanto, em gatos infectados tratados com o fármaco larvicida, houve inicialmente um aumento na produção de IgG anti-*D.immitis*, que diminuiu drasticamente em associação com a morte das larvas, enquanto a resposta IgG anti-PSW aumentou de forma constante e lentamente até o final do estudo (seis meses) (Morchón *et al.*, 2004; Kramer, 2006b; Simón *et al.*, 2007b). A forte resposta imunitária aos antígenos *Wolbachia* foi detectada logo dois meses após a infecção (Prieto, Simón, Genchi, McCall & Venco, 1999; Levy, 2007c; Simón *et al.*, 2007b), antes mesmo da detecção de anticorpos específicos contra antígenos de *D. immitis* (Kramer, 2006b), podendo assim este facto ter implicações importantes no diagnóstico precoce da dirofilariose (Morchón *et al.*, 2004, citados por Kramer, 2007; Kozek *et al.*, 2007). A detecção de um aumento dos níveis de anticorpos anti-*Wolbachia*, juntamente com uma diminuição dos anticorpos anti-*Dirofilaria*, pode ser interpretada como sinal de eficácia do fármaco (ivermectina) (Simón, Kramer, Morchón & Genchi, 2007a). Estes resultados sugerem evidências que a morte dos filarídeos, com a consequente libertação da bactéria *Wolbachia*, aumenta a resposta inflamatória e imune no hospedeiro infectado por *D. immitis* (Simón *et al.*, 2007a; Morchón *et al.*, 2007a; ESCCAP, 2009) podendo ter valor de diagnóstico e ser a chave para novas estratégias de controlo e tratamento com antibióticos em animais infectados (Kozek *et al.*, 2007; Kramer, 2006a). Os dados também podem sugerir que a forte resposta por IgG contra antígenos de *D.immitis* em infecções experimentais e naturais (Prieto *et al.*, 1997), tal como a forte e duradoura reacção imunitária dos gatos a *Wolbachia*, tem um papel na resistência natural destes hospedeiros à infecção por *D. immitis* (Kramer, 2006a; Kramer, 2006b), ou seja, esta resposta é capaz de impedir o desenvolvimento da maioria das larvas e de destruir parte dos parasitas adultos (Morchón *et al.*, 2004).

7. Diagnóstico

A dirofilariose é geralmente mais difícil de ser diagnosticada em gatos do que em cães (ESCCAP, 2006; Fisher, 2008). Para isso contribui o facto de: 1) a infecção apresentar uma incidência global baixa nesta espécie; 2) os sinais clínicos observados serem inespecíficos e transitórios, podendo mesmo os animais serem assintomáticos (Prieto *et al.*, 1997); 3) as

alterações laboratoriais serem transitórias ou ausentes; 4) os gatos normalmente serem amicrofilarémicos; 5) os achados electrocardiográficos serem mínimos. Para além disso, os métodos imunológicos para detecção de Ag também são imperfeitos em gatos, devido à sua baixa carga parasitária (Atkins, 2007a).

Assim, os testes serológicos, radiografias torácicas, ecocardiografia e, ocasionalmente, teste para a detecção de microfílias, são úteis, mas não uniformemente definitivos (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007; Litster & Atwell, 2008b).

O clínico deverá utilizar uma combinação de resultados de testes (Fisher, 2008) para determinar a probabilidade de infecção por dirofilariose (Nelson *et al.*, 2007).

Segundo Atkins (2000), os exames serológicos são os mais úteis para o diagnóstico, seguido de radiografia torácica e ecocardiograma. Levy (2007a) aconselha que o ecocardiograma seja incluído se o índice de suspeição for alto.

Tabela 2 – Directrizes para diagnóstico de dirofilariose em gatos (adaptado de Genchi *et al.*, 2007b)

Teste Knott	Teste detecção Ag	Teste detecção Ac	Interpretação	Comentário
Positivo	Positivo	Positivo	Diagnóstico definitivo de Dirofilariose	Radiografia torácica e ecocardiografia auxiliam na monitorização da doença
Positivo	Negativo	Positivo	Diagnóstico definitivo se microfilarémia presente	Radiografia torácica e ecocardiografia auxiliam na monitorização da doença
Positivo	Negativo	Negativo	Infecção filarial devido a outra espécie	Diferenciar filárias (coloração fosfatase ácida; PCR)
Negativo	Positivo	Positivo	Diagnóstico definitivo de Dirofilariose	Radiografia torácica e ecocardiografia auxiliam na monitorização da doença
Negativo	Negativo	Positivo	- Baixa carga de fêmeas adultas - Filárias imaturas - Infecção abortada - Resposta imune à infecção, mas esta já não está presente	Radiografia torácica e ecocardiografia são úteis para confirmar a suspeita de dirofilariose Re-testar passados 4 a 8 meses

7.1. Sinais clínicos

O quadro clínico manifestado pelos felinos pode ser muito diverso, oscilando desde doença sub-clínica (61,8%) (Levy, 2007b; Venco, 2007), até manifestações cardio-pulmonares graves hiperagudas / agudas ou crônicas, com eventual desfecho fatal (Atkins, 2007a; Venco *et al.*, 2008a).

A doença sub-clínica justifica-se com a capacidade de muitos gatos conviverem com a infecção sem nunca desenvolver sintomatologia, ou até mesmo auto-curarem-se devido à morte de parasitas (Levy, 2007b; Venco, 2007). Levy (2007b) demonstrou que a maioria dos animais com positividade nos testes serológicos eram assintomáticos. Nelson (2008) justifica a ausência de sinais clínicos nos gatos como consequência do estilo de vida tendencialmente mais sedentário, quando comparado com os cães, sendo o exercício um dos principais factores que influenciam a gravidade da doença em canídeos.

De acordo com Venco e os seus colaboradores (2008a), quando os gatos infectados com dirofilariose felina apresentam sintomas, os mais característicos são a nível respiratório (Atkins *et al.*, 2000) ou digestivo (Calvert *et al.*, 1994, Dillon, 1999, citados por Venco *et al.*, 2008b).

Em mais da metade dos gatos sintomáticos surgem sintomas respiratórios, principalmente dispneia e/ou tosse paroxística (Couto & Nelson, 2006), e quando presentes em animais que vivam em áreas endémicas, deve causar suspeita de dirofilariose (Litster & Atwell, 2008b).

Num estudo com 50 casos de felinos infectados naturalmente com *D.immitis*, na Carolina do Norte, os sinais clínicos mais comuns eram relacionados com o sistema respiratório (64%), incluindo dispneia (48%), seguido por tosse (38%). A ocorrência de vômito foi relatada em 38% dos gatos infectados, enquanto os sinais neurológicos foram notificados em 14% dos gatos (Ettinger & Feldman, 2010).

A apresentação hiperaguda ou aguda está geralmente associada à presença de parasitas L5 nas artérias pulmonares ou à morte de um ou mais parasitas (Venco, 2007). Inclui: sialorreia, dispneia, taquicardia, hemoptise, vômitos e diarreia, síncope, ataxia, alterações dos movimentos voluntários como marcha circular, desvio lateral da cabeça, cegueira, choque, convulsões ou até mesmo morte (Atkins, 2007a; Nelson *et al.*, 2007). A morte súbita, em animais previamente assintomáticos, ocorre mais frequentemente em felinos do que em caninos (McCall *et al.*, 1994; Holmes, 1995; Atkins *et al.*, 1995, citados por Venco, 2007; Ralston *et al.*, 1998 citados por Litster, Atkins & Atwell, 2008a) presumivelmente resultando de tromboembolismo ou de reacção anafilática sequelares à morte de parasitas adultos (Miller, 1998; Couto & Nelson, 2006; Litster *et al.*, 2008a; Dvorak, 2000, citado por Litster & Atwell, 2008b). No entanto, nem sempre são encontradas embolizações na artéria pulmonar principal (Dillon, 1998, citado por Litster & Atwell, 2008b) e estudos com

radioisótopos demonstraram que os lobos pulmonares raramente se encontram isquêmicos em animais com síndrome de morte aguda (Dillon, 1999, citado por Litster & Atwell, 2008b). Alguns autores sugeriram uma relação entre hipertensão pulmonar e morte súbita. No entanto hipertensão pulmonar raramente está presente nos gatos afectados, tendo em conta a ausência de sinais secundários, tais como insuficiência cardíaca direita e insuficiência cardíaca congestiva (Lok & Knight, 1998, citados por Litster & *et al.*, 2008a). Assim, a verdadeira patogénese desta síndrome ainda não está elucidada (Litster & Atwell, 2008b; Litster & *et al.*, 2008a).

O aparecimento dos sinais de uma forma crónica é mais comum neste tipo de doença. Os sinais relatados incluem: anorexia, perda de peso, letargia, tosse, dispneia, taquipneia, vômito intermitente não relacionado à alimentação (Nelson *et al.*, 2007, ESCCAP, 2009), intolerância ao exercício e sinais de insuficiência cardíaca direita (Atkins, 2007a). No caso de o animal apresentar doença arterial pulmonar grave, existe possibilidade de desenvolver insuficiência cardíaca direita, apresentando assim tosse, doença parenquimatosa pulmonar ou evidência de eventos tromboembólicos (febre, tosse, dispneia, hemoptise, palidez, estertores pulmonares, taquicardia e hipotensão) (Couto & Nelson, 2006). O derrame pleural, quilotórax e ascite decorrentes da insuficiência cardíaca direita podem também ocorrer, tendo como sinais dispneia (Couto & Nelson, 2006).

Muitas vezes, a dirofilariose em gatos é um achado accidental (cerca de 28% dos casos) (Atkins *et al.*, 2000, citados por Litster & Atwell, 2008b). A auscultação pode revelar murmúrio vesicular simples sem ruídos adventícios (Atkins, 2007a), estertores pulmonares, sons pulmonares abafados resultantes da consolidação pulmonar ou da acumulação de fluido pleural, taquicardia e, ocasionalmente, um som de galope ou sopro cardíaco (Couto & Nelson, 2006).

Quando ocorrem migrações aberrantes dos parasitas, nomeadamente no cérebro, é comum o aparecimento súbito de sinais neurológicos (Couto & Nelson, 2006; Litster & Atwell, 2008b).

Pode-se concluir que os sinais clínicos apresentados por um gato com dirofilariose são variáveis e podem ser transitórios ou inespecíficos (Nelson *et al.*, 2007), podendo mesmo mimetizar várias doenças, como a asma ou a bronquite alérgica (AHS, 2010).

7.2. Testes serológicos

Vários tipos de testes de detecção de dirofilariose estão disponíveis, oferecendo um método rápido e conveniente para determinar o “status” dos animais em relação à infecção. Para avaliar a precisão destes testes, é necessário conhecer a sensibilidade e a especificidade

dos vários métodos, juntamente com a prevalência da dirofilariose na população testada (Datz, 2003).

Tanto os testes para a detecção de anticorpo anti-*D.immitis* como para detecção de antígeno, são ferramentas úteis, e quando utilizadas em conjunto aumentam a probabilidade de diagnóstico acertado (Berdoulay *et al.*, 2004; Nelson *et al.*, 2007; AHS, 2010).

Snyder e os seus colaboradores (2000) concluíram no seu estudo que quando os testes de detecção de antígeno e de anticorpo para *D.immitis* são realizados em simultâneo, verifica-se uma sensibilidade próxima dos 100% e uma especificidade de 99,4%, comparado com uma sensibilidade máxima de 89,5% e especificidade de 92,9% quando os testes são realizados isoladamente (Litster & Atwell, 2008b).

7.2.1. Testes para detecção de Anticorpos para *D.immitis*

Estão comercialmente disponíveis para utilização em felinos testes ELISA para detecção de anticorpos (Ac), utilizando Ag recombinante ou Ag de dirofilária extraído e purificado (Couto & Nelson, 2006). Estes testes são utilizados para triagem de dirofilariose felina e possuem pouca ou nenhuma reacção cruzada com infecções parasitárias gastrointestinais (Snyder *et al.*, 2000; Couto & Nelson, 2006).

Os testes de Ac são bastante sensíveis, sendo esta sensibilidade maior que a fornecida pelos testes de Ag, pois larvas de qualquer sexo e em qualquer etapa do seu desenvolvimento podem provocar uma resposta imunitária do hospedeiro. Esta é detectável tão cedo como um a dois meses pós-infecção (Cohn, 2006; Venco *et al.*, 2008a; AHS, 2010). Kramer e Genchi (2002) constataram que 14% dos animais experimentalmente infectados com o parasita apresentaram positividade nos testes de detecção de anticorpos 60 dias após a infecção, enquanto 100% dos gatos foram positivos para a presença de Ac três meses após a infecção.

Para os testes de detecção de anticorpos anti-*D. immitis* em felinos foi relatada uma sensibilidade tão elevada como 98% e uma igualmente elevada especificidade. No entanto, estudos em que foram realizadas necrópsias de gatos naturalmente infectados indicaram uma menor sensibilidade, variando o intervalo desde 32% a 90%, e uma especificidade de 78% a 99% (Levy, 2007a). Segundo Nelson (2007) os testes para detecção de Ac variam na sua sensibilidade para cada estágio do desenvolvimento larvar, o que justifica resultados discordantes entre os testes. Assim, um teste de Ac positivo deverá ser confirmado por outra evidência de dirofilariose, para que o diagnóstico definitivo seja feito.

Um teste de Ac positivo indica exposição ao parasita, e não a presença de parasitas adultos especificamente, ou seja, apenas dá a garantia que o animal já teve a infecção ou esteve exposto a tal (Luria *et al.*, 2004; Cohn, 2006; AHS, 2010; Nelson *et al.*, 2007). Como tal, estes testes oferecem informações extremamente úteis sobre a distribuição e o risco de infecção com o parasita numa população de gatos (Miller *et al.*, 1998, citados por Kramer & Genchi, 2002; Berdoulay *et al.*, 2004). Também é importante ter em conta, tal como já referido, que as infecções abortivas podem estimular a produção de anticorpos específicos contra larvas, sem nunca alcançar o “status” de adulto. Donoghue e os seus colaboradores (1976) relataram que 40% dos gatos colocados experimentalmente em condições de intenso desafio larvar (10 larvas de terceiro estágio a cada 21 dias durante 210 dias) e sujeitos à administração de medicamentos profiláticos, foram positivos para o teste de detecção de Ac 3-4 meses após o tratamento, provando assim que apenas a exposição ao parasita despoleta reposta imunológica humoral, o que é reconhecido nos testes de detecção de Ac. A persistência de títulos positivos de Ac após a resolução de uma infecção com o parasita é desconhecida (Snyder *et al.*, 2000, Kramer & Genchi, 2002). Miller (1998) afirma que os testes de detecção de Ac podem manter-se positivos por nove a doze meses.

O título de Ac não parece correlacionar-se com o número de parasitas presentes, nem com a gravidade da doença clínica ou sinais radiográficos (Couto & Nelson, 2006). No entanto, vários estudos revelaram que gatos infectados e sintomáticos apresentam maior probabilidade de obterem resultados positivos para o teste de detecção de anticorpos que os gatos infectados assintomáticos (Nelson *et al.*, 2007).

Autores avaliaram a relação entre anticorpo e antigénio, relatando que baixos níveis de anticorpo Anti-*D.immitis* (< 20 Ac U / ml) raramente são associados à presença de antigénios circulantes. Estas reacções fracamente positivas podem ter como causa uma infecção abortiva, pré-patente ou infecções anteriores com a persistência de anticorpos circulantes. As reacções intensamente positivas (> 20 Ac U / ml) são associadas à presença dos parasitas adultos no coração / pulmão (Piché *et al.*, 1998; Genchi *et al.*, 1998, citados por Kramer & Genchi, 2002).

Podem ocorrer com uma certa frequência testes para a detecção de Ac falso-negativos (estimam-se 3% a 14% dos casos, segundo Couto e Nelson, (2006) ou cerca de 25% (AHS, 2010)). Num estudo efectuado com 1348 gatos assintomáticos, Kalkstein e os seus colaboradores (2000) relataram que mais de 20% dos animais infectados e com antigénios para *D. immitis* obtiveram resultados negativos nos testes comerciais para a detecção de anticorpos, o que os levou a concluir que os testes disponíveis na prática clínica para a detecção de anticorpos têm uma utilidade limitada no diagnóstico de dirofilariose em gatos.

Um teste de Ac negativo pode sugerir ausência de infecção por dirofilária, infecção há menos de 60 dias ou uma concentração de imunoglobulina G (IgG) contra o Ag utilizado na

confeção do teste muito baixa para ser detectada. Se as manifestações clínicas sugerirem dirofilariose no animal, mas o teste de Ac for negativo, deve-se repetir o teste serológico utilizando-se um teste para detecção de Ac diferente e um teste de detecção de Ag de dirofilária. A realização de radiografias torácicas e de um ecocardiograma bidimensional está também recomendada nestes casos (Couto & Nelson, 2006; Venco *et al.*, 1998, citados por Kramer & Genchi, 2002).

Tabela 3- Comparação de desempenho dos testes de detecção de anticorpo de Dfel existentes no mercado veterinário (estudo experimental com 380 gatos) (adaptado de Berdoulay *et al.*, 2004)

Teste serológico	% sensibilidade	% especificidade	Nº positivos	Nº falsos positivos	Nº negativos	Nº falsos negativos
Synbiotics Witness antibody	62.1	98.6	18	5	346	11
Antech Diagnostics antibody	72.4	80.9	21	67	284	8

7.2.2. Testes para detecção de antígeno de *D.immitis*

Os testes comerciais existentes no mercado veterinário detectam antígeno de *D.immitis*, nomeadamente parasita adulto feminino (antígenos provenientes dos úteros das fêmeas) no soro, plasma e sangue total dos animais infectados (Weil, 1987; Miller, 1998; Genchi *et al.*, 2007b). Os testes que existem no mercado para a detecção de antígenos podem ser utilizados em cães e gatos uma vez que o parasita é o mesmo (Berdoulay *et al.*, 2004).

Estes testes são utilizados rotineiramente nas clínicas, com muito sucesso em cães (AHS, 2010), sendo muito específicos e de fácil realização (Genchi *et al.*, 2007b).

Testes para detecção de Ag baseados em metodologias de ELISA são altamente específicos na detecção da infecção por formas adultas, mas a sua sensibilidade depende do sexo, idade e número de parasitas (Snyder *et al.*, 2000; Nelson *et al.*, 2007). Genchi e os seus colaboradores (2007b) afirmam que podem ser obtidos resultados confiáveis e reprodutíveis com 2, 3 ou mais parasitas adultos fêmeas. Segundo Levy (2007b) estes testes também possuem uma sensibilidade elevada para as infecções ectópicas.

Num estudo recente, os testes ELISA foram positivos em soros de 36 a 93% de 31 gatos, que abrigavam entre 1 a 7 dirofilárias adultas do sexo feminino, com uma sensibilidade proporcionalmente crescente à carga parasitária feminina (Atkins, 2007a).

Após a realização de um estudo na Universidade da Flórida, Levy (2007a) concluiu que os testes de antígeno apresentam uma sensibilidade de 68% a 86% e especificidade de 98% a 99%, usando como base os parasitas adultos encontrados na necrópsia.

A sensibilidade dos testes disponíveis no mercado tem vindo a aumentar, sendo bastante eficazes na detecção de infecções por um único parasita adulto, desde que este seja do sexo feminino (Nelson *et al.*, 2007).

Tabela 4- Comparação de desempenho dos testes de detecção de antígeno de Dfel existentes no mercado veterinário (estudo experimental com 380 gatos) (adaptado de Berdoulay *et al.*, 2004)

Teste serológico	% sensibilidade	% especificidade	Nº positivos	Nº falsos positivos	Nº negativos	Nº falsos negativos
IDEXX Snap antigen	79.3	98.0	23	7	344	6
SA Scientific CHAT antigen	79.3	99.7	23	1	350	6
Synbiotics DiroCHEK antigen	86.2	99.1	25	3	348	4

Recentemente (desde 2008) começou a ser comercializado especificamente para gatos um teste para a detecção de antígeno (“IDEXX’s SNAP® Feline Triple™”), que detecta antígenos de *D.immitis*, assim como antígenos de FeLV e anticorpos de FIV (IDEXX, 2008). Este teste é uma adaptação do teste de dirofilariose canino, com um aumento de sensibilidade de cerca de 15% sobre os testes convencionais (Atkins, 2007a; Ettinger & Feldman, 2010). Segundo o fabricante, este teste apresenta uma sensibilidade de 89,3% e uma especificidade de 99,5% na detecção da dirofilariose em gatos (IDEXX, 2008).

Os resultados falso-negativos nos testes para detecção de antígeno de dirofilárias ocorrem principalmente devido à baixa carga parasitária normalmente existente em felinos e também ao maior tempo necessário para que estes se tornem antígeno-positivos (período pré-patente) (Couto & Nelson, 2006). De acordo com AHS (2010) a maioria destes testes irá detectar com precisão as infecções de um ou mais parasitas adultos do sexo feminino, com pelo menos 6 a 8 meses de idade, mas geralmente não detecta as infecções com menos de 5 meses (Snyder *et al.*, 2000; Levy, 2007b). Isso é importante porque os gatos podem vir a ter de suportar um período de dificuldade respiratória durante as fases de migração das larvas, sem um diagnóstico possível (Levy, 2007b). A presença de Ag no sangue é bastante consistente, podendo persistir durante 3 a 5 meses após a morte natural dos parasitas adultos ou após a terapia adulticida, mesmo quando bem sucedida (Goodwin, 1998).

O teste para detecção de Ag pode também ter um resultado negativo quando o animal possui uma infecção apenas por parasitas machos. A morte aguda e manifestações clínicas

graves podem ocorrer em gatos antigénio-negativos (Couto & Nelson, 2006), muitas vezes devido a infecções com parasitas imaturos (ESCCAP, 2009).

No estudo realizado por Levy (2007a), 9 dos 31 gatos (29%) com dirofilariose confirmada através da necrópsia, tinham pelo menos um teste de antigénio falso-negativo.

Estes tipos de testes sub-estimam assim a prevalência da doença em felinos (AHS, 2010), mas podem fornecer informações sobre a carga parasitária do animal (ESCCAP, 2009). No entanto, segundo Genchi e os seus colaboradores (2007b), o grau de parasitismo pode ser limitado pelo aumento transitório de antigénios na consequência da morte recente de parasitas.

Pode-se assim concluir que um teste para detecção de antigénio positivo confirma o diagnóstico de dirofilariose, mas um teste negativo não exclui o diagnóstico (Levy, 2007b; Atkins *et al.*, 1995, citado por Venco, 2007; ESCCAP, 2009).

7.3. Testes para a detecção de microfilárias

Para a detecção de microfilárias circulantes no sangue existem várias técnicas, nomeadamente a técnica de Knott modificada (Fisher, 2008) ou o filtro de Millipore em que ocorre a lise das hemácias e a posterior fixação de qualquer microfilária existente (Couto & Nelson, 2006).

Os testes de detecção de microfilarémia geralmente são negativos uma vez que a espécie felina apresenta uma microfilarémia baixa e transitória, com 1 a 2 meses de duração (McCall *et al.*, 1992, citados por Kramer & Genchi, 2002), ocorrendo em aproximadamente 50% dos gatos infectados, 6,5 a 7 meses pós-infecção (Goodwin, 1998; Couto & Nelson, 2006). De acordo com Levy (2007b), menos de 20% dos gatos infectados pode apresentar positividade neste teste. No entanto, este teste poderá ser válido em gatos individuais, devendo-se utilizar 3 a 5 mililitros de sangue, em vez de 1 mL, como é habitual.

É importante também salientar que a intensidade da microfilarémia não está correlacionada com a carga de parasitas adultos (Genchi *et al.*, 2007b).

Embora a sensibilidade destes testes seja baixa em gatos (ESCCAP, 2009; Venco, 2007), a detecção de microfilárias confirma o diagnóstico de dirofilariose (Miller, 1998; Levy, 2007b; AHS, 2010), possuindo assim uma especificidade de 100%, ou seja, não devem haver quaisquer falsos positivos (Datz, 2003; Atkins *et al.*, 1995, citados por Venco, 2007), tratando-se também de um método barato e simples (Peribáñez *et al.*, 2001).

Algumas das razões para a existência de resultados falso-negativos são infecções ocultas (ou seja, os parasitas adultos estão presentes no animal, mas as microfilárias estão

ausentes), pouca quantidade de amostra sanguínea e periodicidade apresentada pelas microfilárias (flutuações diárias no número de microfilárias).

É sabido que a libertação das microfilárias, por parte das dirofilárias adultas, para o sangue venoso periférico dos hospedeiros vertebrados, sofre oscilações em termos de concentração ao longo do dia (Nogami *et al.*, 2000). Apresentam um padrão sub-periódico nocturno, ou seja, encontram-se continuamente na corrente sanguínea (Nogami *et al.*, 2000), com um pico máximo de concentração (1350 microfilárias/mL) às 21:00 horas (Hayasaki, Okajima, Song & Shiramizu, 2003), ou às 22:00 horas (Nogami *et al.*, 2000), reduzindo gradualmente para um mínimo verificado às 7:00h (300/mL). Esta variação parece depender de factores endógenos das microfilárias ou da fototaxia (Hayasaki *et al.*, 2003). Para Nogami e os seus colaboradores (2000), a periodicidade do pico máximo representa uma adaptação evolutiva por parte do parasita, de forma a haver uma máxima absorção das microfilárias quando existe maior actividade do vector.

As microfilárias poderão estar ausentes em infecções com parasitas do mesmo sexo ou, em situações em que são retiradas de circulação pelos anticorpos produzidos pelo hospedeiro (AHS, 2010). Payne & Carter (2005) afirmam que a resposta imune no gato é bem mais eficiente comparativamente à do cão, o que poderá ser suficiente para destruir as microfilárias. Nestes casos, um resultado negativo não descarta a presença de infecção no animal (AHS, 2010).

De notar que em algumas regiões, como é o caso do Norte de Itália, foram encontradas microfilárias de *D. repens*, sendo assim necessário proceder à sua distinção relativamente às de *D. immitis* (Nelson *et al.*, 2007), podendo para tal, utilizar-se a técnica de coloração da fosfatase ácida (Genchi *et al.*, 2007b). As microfilárias pertencentes a *D. immitis* apresentam uma coloração intensa ao redor do poro excretor e anal, enquanto as de *D. repens* mostram apenas actividade da fosfatase ácida ao redor do poro anal (Peribáñez *et al.*, 2001; Genchi *et al.*, 2007b). Foi descrito por Peribáñez (2001) um método alternativo para a distinção de microfilárias, através da utilização de um teste comercial (LEUCOGNOST-SP ®) que oferece como vantagens a rapidez e simplicidade comparativamente à técnica anterior. Também a técnica de PCR permite discriminar as diferentes espécies de microfilárias, sendo o seu uso recomendado quando existem anomalias morfológicas consequentes de tratamentos preventivos incorrectos ou quando existem infecções múltiplas, com mais de uma espécie de filária (Mar, Yang, Chang & Fei, 2002; Al Favia *et al.*, 1996; Mar *et al.*, 2002; Casiraghi *et al.* Rishniw 2006; *et al.*, 2006, citados por Genchi *et al.*, 2007b).

7.4. Radiografia torácica

Este meio imagiológico permite avaliar a gravidade da doença, acompanhar a sua evolução (Nelson *et al.*, 2007) e definir o prognóstico (AHS, 2010).

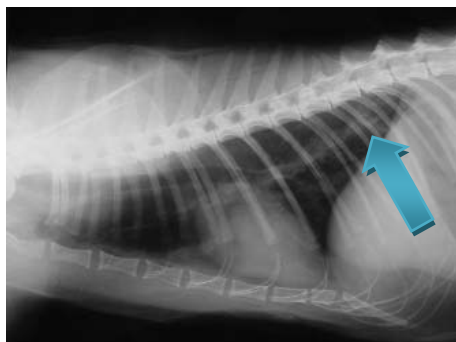
Os achados sugerem frequentemente a presença de dirofilariose, mas podem não se correlacionar com as manifestações clínicas apresentadas pelo animal ou com os resultados dos testes serológicos efectuados (Couto & Nelson, 2006) devido ao desenvolvimento temporal do parasita, resposta imunitária do hospedeiro e regressão das lesões (Nelson *et al.*, 2007).

Apenas uma minoria de gatos infectados apresenta as radiografias torácicas normais (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007), considerando-se assim o raio -X torácico uma importante ferramenta de diagnóstico nesta doença (Venco, 2007; Venco *et al.*, 2008a) e sendo sugerido como um teste de triagem (Atkins, 2007a). No entanto as alterações de estruturas visíveis ao raio-X torácico poderão ocorrer de forma menos consistente em dirofilariose felina comparativamente com a canina e a ausência destas alterações radiográficas não exclui o diagnóstico de dirofilariose em gatos (Schafer & Berry, 1995, citado por Venco *et al.*, 2008a).

Em cerca de metade dos gatos suspeitos de estarem infectados podem ser encontradas radiografias com características sugestivas de Dirofilariose Felina.

Segundo um estudo citado por Levy (2007b), os principais achados radiográficos incluem um alargamento da artéria pulmonar (76% dos animais infectados), com ou sem tortuosidade visíveis, muitas vezes com margens mal definidas (Atkins, 2007a), aumento do ventrículo direito ou generalizado do coração (Selcer, Newell, Mansour & McCall, 1996; ESCCAP, 2009) e alterações do parênquima pulmonar (76%), incluindo infiltrados focais ou difusos (intersticiais, bronco-intersticiais, ou até mesmo alveolares) (Couto & Nelson, 2006; Atkins, 2007a).

Figura 4 – Radiografia torácica de um gato com Dirofilariose, com alteração do parênquima pulmonar (lobos pulmonares caudais) (seta) (adaptado de Venco, 2007)



Num estudo efectuado por Donahoe e os seus colaboradores (1976), as alterações detectadas em radiografias de gatos experimentalmente infectados com *D. immitis* são: (1) aumento da visualização das artérias pulmonares, (2) hipertrofia cardíaca direita, e (3) áreas focais e difusas de densidade do parênquima pulmonar. Os mesmos autores observaram que pelo menos uma dessas lesões era visível radiograficamente 3 a 7 meses após a infecção, em todos os 15 gatos. A gravidade das alterações não foi directamente proporcional ao número de larvas infectantes inoculadas, à carga de parasitas adultos, ou à idade dos gatos. No entanto, constataram que os gatos do sexo masculino apresentaram lesões cardiopulmonares mais graves do que as fêmeas, o mesmo acontecendo com os gatos que tiveram microfilarémia durante o curso da infecção. Ainda referente ao mesmo estudo, as densidades parenquimatosas diminuíram em oito dos 15 gatos, 6 a 14 meses após a infecção, tendo sido o alargamento das artérias pulmonares o sinal mais consistente de infecção por *D. immitis* (Donahoe *et al.*, 1976).

As alterações na artéria pulmonar e nas cavidades cardíacas direitas são tipicamente mais subtis na espécie felina comparativamente com a canina uma vez que a maioria dos gatos não desenvolve hipertensão pulmonar (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007).

Na opinião de Venco (2008a) a avaliação da silhueta cardíaca não é uma ferramenta clínica confiável para diagnóstico da infecção por dirofilariose felina, apesar de se observar uma tendência para esta aumentar quando o animal se encontra infectado. O alargamento da artéria pulmonar não pode constituir um marcador fiável de infecção em felinos, uma vez que geralmente não é visível nas projecções ventrodorsais ou dorsoventrais, pois está localizada mais medialmente, ficando assim obscurecida pela silhueta cardíaca (Couto & Nelson, 2006; ESCCAP, 2009; Nelson *et al.*, 2007).

A projecção ventrodorsal é a melhor para a avaliação das artérias lobares caudais, as quais aparecem mais frequentemente anormais nas radiografias torácicas de um animal infectado com dirofilárias (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007).

A morfologia característica das artérias pulmonares dos gatos infectados com dirofilariose tende a normalizar (Selcer *et al.*, 1996), ao contrário da dos cães, podendo mesmo desaparecer completamente, não deixando nenhuma evidência de infecção residual.

Nos gatos também é comum a existência de um padrão bronco-pulmonar que pode desaparecer espontaneamente em alguns meses, sendo uma característica sugestiva, mas não exclusiva deste tipo de infecção (Nelson *et al.*, 2007). Os padrões bronco-pulmonares difusos são também característicos de outras doenças respiratórias no gato, como é o exemplo da asma (Nelson, 2008) ou da presença do parasita *Aelurostrongylus abstrusus* (Losonsky *et al.* 1983 & Grandi *et al.* 2005, citados por Venco *et al.*, 2008a).

Outros achados pulmonares, mas menos comuns na DFel, incluem hiperinsuflação dos pulmões (Selcer *et al.*, 1996) com achatamento do diafragma ou aumento do espaço entre o

coração e o diafragma, no caso de broncoconstrição (Johnson, 2006), derrame pleural ou pneumotórax (Nelson *et al.*, 2007). A hiperinsuflação pulmonar, com o decorrer da DFel, tende a ser progressivamente mais comum (Selcer *et al.*, 1996).

7.5. Ecocardiografia

A ecocardiografia é uma metodologia de diagnóstico útil (Atkins *et al.*, 2008), mais sensível nos felinos do que em canídeos (Atkins, 2007a) e que tem permitido a visualização de parasitas em 40% a 78% dos gatos infectados (DeFrancesco *et al.*, 2001, citados por Couto & Nelson, 2006).

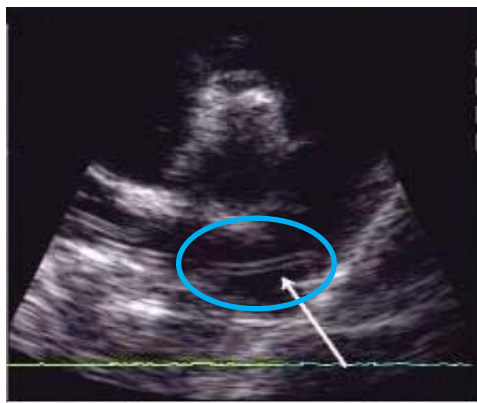
Geralmente, em casos suspeitos, a elevada especificidade deste exame, próxima de 100% segundo ESCCAP (2009), permite a confirmação de infecção por *D. immitis* com uma duração de pelo menos cinco meses (Nelson *et al.*, 2007), ou seja, a visualização de parasitas através da ecografia fornece um diagnóstico definitivo (AHS, 2010). A probabilidade de identificação da doença por este meio imagiológico aumenta quanto maior for o número de parasitas (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007), e a experiência do operador (Genchi *et al.*, 1998, citados por Litster & Atwell, 2008b).

No caso dos gatos, os parasitas são vistos com maior frequência no ramo principal e lobar direito da artéria pulmonar. Um estudo retrospectivo em 43 gatos infectados detectou dirofilárias por ecocardiografia em 17, com maior frequência nas artérias pulmonares, mas também no ventrículo direito, aurícula direita e veia cava caudal (Litster & Atwell, 2008b). É assim importante a suspeita clínica e a pesquisa cuidadosa destas estruturas, pois em infecções com baixa carga parasitária, os parasitas poderão não ser detectados (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007), sendo adicionalmente difícil a visualização das extremidades das artérias pulmonares (AHS, 2010) devido à impedância acústica do ar nos pulmões insuflados (ESCCAP, 2009).

O longo comprimento do parasita adulto quando comparado com o comprimento das artérias pulmonares dos gatos, poderá facilitar a sua visualização quando se estende dos ramos distais até aos segmentos proximais, onde podem ser visualizados (Nelson *et al.*, 2007; Venco, 2007).

As dirofilárias adultas surgem na ecografia como pequenos artefactos lineares, paralelos, fortemente hiperecogénicos (ESCCAP; 2009; Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007), que correspondem à reflexão da cutícula do parasita (Atkins *et al.*, 2008). Normalmente possuem entre 0,7 e 1,2 mm de espessura, separadas aproximadamente por 0,5 a 1,0 mm, sendo o comprimento variável, pois reflecte o ângulo no qual as dirofilárias estão alinhadas relativamente ao plano de imagem ecocardiográfica (Miller, 1998).

Figura 5 – Ecocardiografia de um gato com Dirofilariose. Dirofilárias são visualizadas como duas linhas paralelas entre si (elipse), localizadas no lúmen da artéria pulmonar (adaptado de Venco, 2007)



Por vezes, os parasitas adultos mortos podem ser reconhecidos pelo colapso das paredes do corpo (Nelson *et al.*, 2007).

A quantificação de carga parasitária é, no entanto, difícil pois os parasitas normalmente adquirem uma posição em espiral, o que faz com que os ecos interceptem as dirofilárias em vários locais, originando imagens ecográficas múltiplas, sobrestimando assim o número de parasitas (Miller, 1998; Nelson *et al.*, 2007).

Na avaliação de gatos em risco de dirofilariose é possível a obtenção de resultados falsos-positivos através da ecografia, devido à presença ocasional de uma densidade linear semelhante à estrutura das dirofilárias. Estas densidades têm uma causa desconhecida, mas presume-se que resultem da reflexão da parede da artéria pulmonar (Atwell *et al.*, 2001, citados por Litster & Atwell, 2008b).

A ecocardiografia também é bastante útil na diferenciação da dirofilariose com outras doenças cardíacas que causam dificuldade respiratória (Levy, 2007b). Este método de diagnóstico também pode ser útil na identificação de parasitas adultos nos gatos em que os sinais radiográficos ou dados de imunodiagnóstico são insuficientes para estabelecer um diagnóstico (Selcer *et al.*, 1996).

7.6. Angiografia

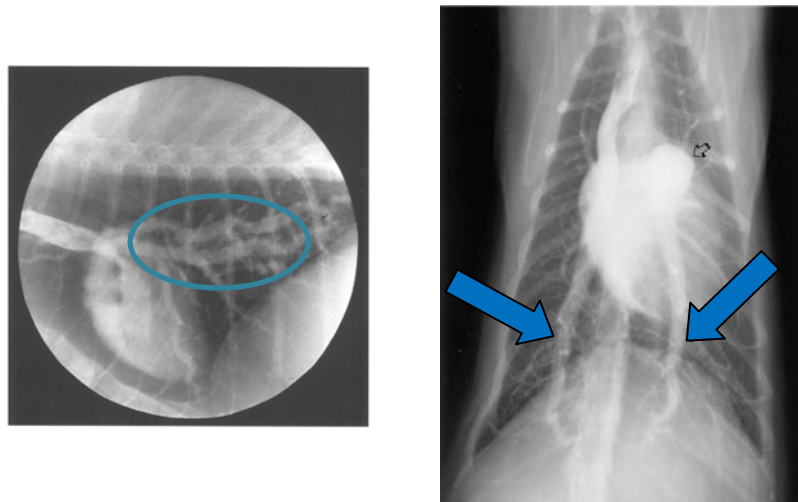
Este método é útil para a visualização da morfologia das artérias pulmonares (ESCCAP, 2009; Venco, 2007).

Num gato suspeito de dirofilariose, com resultado de teste para detecção de antígeno negativo e ecocardiografia normal, pode-se realizar uma arteriografia pulmonar, para confirmar o diagnóstico. As alterações morfológicas na artéria pulmonar estão descritas

(Couto & Nelson, 2006), e os parasitas aparecem como defeitos lineares de preenchimento, intravascular (Atkins *et al.*, 1995, citado por Venco, 2007; Atkins, 2007a).

Trata-se de um método de confirmação de diagnóstico relativamente simples, no entanto, este não é muito utilizado devido ao seu carácter invasivo (AHS, 2010).

Figura 6 – Angiograma não-selectivo de um gato com Dirofilariose (projecção latero-lateral à esquerda e ventrodorsal à direita). Observar o alargamento e a tortuosidade das artérias pulmonares (elipse e setas) (adaptado de Miller, 1998; Ettinger & Feldman, 2010)



7.7. Alterações sanguíneas laboratoriais

Geralmente, as análises hematológicas e bioquímicas de rotina não são úteis para o diagnóstico da infecção pela *D.immitis* em felinos (Levy, 2007b).

Em termos laboratoriais poderá ocorrer uma eosinofilia duante a infecção (Atkins *et al.*, 2000), apesar de apenas cerca de 33% a 43% gatos infectados possuírem eosinofilia periférica nas análises sanguíneas efectuadas (Couto & Nelson, 2006; Levy, 2007b). A ausência de eosinofilia não exclui o diagnóstico de dirofilariose, uma vez que os eosinófilos normalmente estão presentes na circulação de forma inconsistente, ocorrendo geralmente 4 a 7 meses pós-infecção, e posteriormente de forma intermitente (Miller, 1998; AHS, 2010).

A basofilia é rara, no entanto deve ser considerado um diagnóstico de DFel e realizados exames complementares de diagnóstico se a basofilia ocorrer associada à eosinofilia (Miller, 1998; Couto & Nelson, 2006).

Anemia não-regenerativa leve está presente em aproximadamente um terço dos casos.

Se existir doença arterial pulmonar avançada e tromboembolismo pode existir neutrofilia, normalmente com desvio à esquerda, monocitose, trombocitopénia e coagulação intravascular disseminada (CID).

Nas análises bioquímicas, o mais comum é o aparecimento de hiperglobulinémia, embora de forma inconsistente (Dillon, 1984, citado por Miller, 1998; Couto & Nelson, 2006).

7.8. Lavagem broncoalveolar ou traqueal

O exsudado obtido através da lavagem broncoalveolar ou traqueal num gato com dirofilariose é rico em células eosinofílicas, que é sugestivo de doença parasitária ou alérgica, semelhante ao encontrado na asma felina ou na presença de outros parasitas pulmonares (Atkins *et al.*, 1995, citados por Venco, 2007). Experimentalmente tem-se verificado que este quadro ocorre entre os 4 e os 6 meses pós-infecção. Numa fase mais posterior da doença, o exsudado resultante das lavagens mostra uma inflamação crónica inespecífica ou muitas vezes os achados são irrelevantes. Assim, a ausência de um exsudado eosinofílico não exclui o diagnóstico de dirofilariose (Couto & Nelson, 2006).

No caso de o animal já apresentar insuficiência cardíaca induzida pelo parasita, o fluido pleural resultante é um transudado modificado, verificando-se ocasionalmente, quilotórax (Couto & Nelson, 2006)

7.9. Electrocardiograma (ECG)

Normalmente o ECG de um felino com dirofilariose não apresenta alterações, não sendo assim útil a sua realização em gatos infectados (Venco, 2007). No entanto, animais que apresentem insuficiência cardíaca direita têm alterações sugestivas de aumento ventricular direito (Couto & Nelson, 2006). Anomalias como o eixo eléctrico desviado para a direita e fibrilhação auricular são, geralmente, encontrados em estados posteriores da doença, quando já existe insuficiência cardíaca (ESCCAP; 2009).

7.10. Necrópsia

Em animais que morreram subitamente de forma inexplicável ou que, apesar da forte suspeita clínica de dirofilariose, esta não pôde ser confirmada em vida, deve ser realizada a necrópsia, caso o proprietário o permita (Nelson *et al.*, 2007).

É importante haver uma inspecção exaustiva das veias cavas, lado direito do coração e artérias pulmonares, pois um pequeno número de parasitas pode facilmente passar

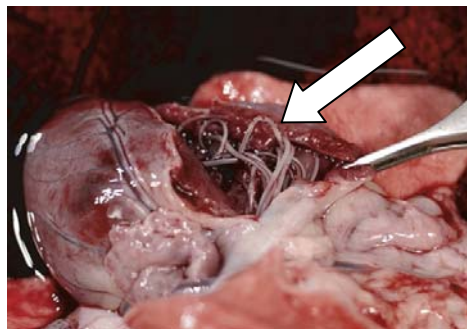
despercebido, principalmente se ocorrer presença de parasitas imaturos, morte espontânea dos parasitas ou fragmentos destes (Nelson *et al.*, 2007).

O diagnóstico pós-mortem também poderá ser dificultado se os parasitas estiverem localizados nas artérias pulmonares distais ou em locais aberrantes (artérias sistêmicas, cavidades do organismo, cérebro ou canal espinhal da medula) (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007). Assim, as extremidades distais das artérias pulmonares devem também ser alvo de especial atenção durante a inspecção, pois pelo fluxo sanguíneo, os parasitas podem ser comprimidos num menor espaço (Nelson *et al.*, 2007).

Embora o objectivo principal da necrópsia seja a visualização directa dos parasitas adultos, também é possível obter amostras para histopatologia com o objectivo de caracterizar os achados anatomo-patológicos. Estes achados envolvem principalmente os pulmões e respectivos vasos. Os gatos afectados desenvolvem uma endoarterite da camada vilosa e hipertrofia muscular da artéria pulmonar, artérias e arteríolas, com formação de sulcos elevados em projecção acima da superfície (Byerly *et al.*, 1977, Sisson, 1998 citados por Litster & Atwell, 2008b). Em termos citológicos, observam-se várias áreas da camada íntima da artéria pulmonar com infiltração de eosinófilos, linfócitos e plasmócitos, tal como acumulação de macrófagos nos alvéolos (McCracken & Patton, 1993, citados por Litster & Atwell, 2008b).

Uma hipertrofia medial das artérias pulmonares é frequentemente descrita (Doi *et al.*, 1982, McCracken & Patton 1993, Dillon, 1998, Browne *et al.*, 2005, citados por Atwell, 2008b). No entanto, gatos infectados com *Toxocara cati* ou *Aelurostrongylus abstrusus* podem desenvolver patologia similar na artéria pulmonar (Hamilton 1970, Weatherley & Hamilton, 1984, citados por Litster & Atwell, 2008b). Outro dos diagnósticos diferenciais é quando existe vasoconstricção, onde as características microscópicas são semelhantes (Litster & Atwell, 2008b).

Figura 7 – Necrópsia de um gato com Dirofilariose. As dirofilárias são visualizadas no ventrículo direito (seta) (adaptado de Atkins *et al.*, 2008)



8. Diagnósticos diferenciais

Todas as doenças que apresentem sinais clínicos a nível respiratório, semelhantes aos observados na dirofilariose felina, devem constar da lista de diagnósticos diferenciais. Assim, incluem-se nesta lista a asma felina (Rozanski, 2008) a cardiomiopatia, a pneumonia (bacteriana, viral, fúngica ou por protozoários), as neoplasias pulmonares (primárias ou metastáticas) e as infecções por *A. abstrusus* e *P. kellicotti* (Miller, 1998).

As lesões parenquimatosas pulmonares observadas em todas estas doenças são similares às observadas na dirofilariose, mas as alterações das artérias pulmonares descritas, tais como a tortuosidade destas, são únicas na parasitose.

Quando os parasitas adultos de *D.immitis* alcançam as artérias pulmonares causam normalmente uma pneumonia com sinais radiográficos semelhantes aos verificados na asma felina. Nesta fase da doença (fase pulmonar larvar), que ocorre 3 a 6 meses pós-infecção (Dillon, 2007), os títulos de anticorpos serão muito provavelmente positivos (Ac são detectados a partir dos 60 dias pós-infecção) (Miller, 1998; ESCCAP, 2009) mas o resultado do teste para detecção de antígenos será quase invariavelmente negativo, uma vez que estes testes só detectam parasitas adultos, ou seja, a partir dos 5 meses pós-infecção (Miller, 1998; Levy, 2007b). Os gatos parasitados com *D.immitis* respondem favoravelmente à administração de corticoesteróides, assim como os gatos com asma, tornando a diferenciação das duas doenças ainda mais difícil (Miller, 1998).

9. Tratamento

O tratamento de gatos infectados com *D.immitis* é controverso. Se a infecção é detectada ou a exposição identificada em exames de rotina, e o gato se apresenta assintomático, deve ser realizada uma avaliação posterior do paciente antes da decisão de tratamento. Se não existirem características radiográficas compatíveis com dirofilariose, os animais não devem ser sujeitos a qualquer tipo de tratamento (Levy, 2007c).

No caso de o animal não apresentar sinais clínicos evidentes de infecção por *D.immitis*, mas existirem evidências radiológicas de doença pulmonar, tanto a nível intersticial, como vascular, compatíveis com a doença, também poderá ser prudente aguardar a cura espontânea (AHS, 2010; Nelson *et al.*, 2007).

Nesses casos, o curso da infecção subclínica pode ser monitorizada periodicamente com intervalos de 6 a 12 meses, com testes de detecção de Anticorpo, de detecção de Antígeno e radiografias de tórax. Nos gatos que recuperam, a regressão dos sinais radiográficos e

especialmente a seroconversão de um teste antigénio positivo ao estado negativo, prova que o período de risco provavelmente já passou (Nelson *et al.*, 2007).

9.1. Tratamento de suporte

Uma abordagem conservadora para gatos infectados com evidência radiográfica de doença pulmonar consiste em utilizar prednisona, no entanto sem eficácia adulticida (AHS, 2010; Couto & Nelson, 2006). A administração, por via oral de doses decrescentes de prednisona (por exemplo, 2 mg/kg/dia, diminuída, gradualmente durante duas semanas para 0,5 mg/kg pv a cada 48 horas e, então, descontinuado após um período adicional de duas semanas) é uma boa opção para diminuir os infiltrados intersticiais visíveis ao raio-X torácico (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007; Atkins *et al.*, 1995, citados por Venco, 2007). Este regime empírico também deve ser iniciado sempre que os testes para a detecção de anticorpos e/ou detecção de antigénios apresentem resultados positivos e sempre que os animais demonstrem sinais clínicos ligeiros ou intermitentes (Levy, 2007c; Nelson *et al.*, 2007; Venco, 2007), ou repetido no caso de os sinais respiratórios recidivarem (Couto & Nelson, 2006).

Os efeitos do tratamento devem ser reavaliados com base na resposta clínica e/ou radiografias torácicas (Nelson *et al.*, 2007).

Em gatos com doença aguda, que apresentam dificuldade respiratória grave é importante uma estabilização imediata com terapia adequada para o tratamento de choque (Nelson *et al.*, 2007).

Dependendo das circunstâncias, o tratamento sintomático deverá incluir a administração de glucocorticóides (dexametasona 1 mg / kg pv IV ou IM, ou succinato sódico de prednisolona, 50 - 100 mg IV / animal), a realização de fluidoterapia com soluções equilibradas de electrólitos, a administração de broncodilatadores (aminofilina 6,6 mg / kg IM BID, teofilina 25 mg / kg PO SID ou terbutalina 0,01 mg / kg SC) e de oxigénio suplementar por cateter intranasal ou num ambiente fechado (gaiola) (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007).

O uso de broncodilatadores justifica-se pela capacidade das xantinas (aminofilina e teofilina), melhorarem a função dos músculos respiratórios (Atkins, 2007c), assim como a terbutalina, que causa um relaxamento directo do músculo liso das vias aéreas (Johnson, 2006). A existência de campos de hiperinsuflação pulmonar pode indicar broncoespasmo, uma condição para a qual a broncodilatação é vantajosa (Atkins, 2007c).

Se o gato apresentar sinais clínicos graves devido a uma embolia por parasitas mortos, é recomendada a administração de doses elevadas de prednisolona (1-2 mg/kg TID) (Levy, 2007c; ESCAAP, 2009).

A administração de diuréticos não está indicada, mesmo em animais que apresentem graves padrões pulmonares intersticiais ou alveolares.

No caso de insuficiência cardíaca decorrente da doença arterial pulmonar, o tratamento indicado para controlar os sinais inclui toracocentese, se necessário, confinamento numa jaula de oxigénio e tratamento com furosemida. A adição de um inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA), como o enalapril, ao tratamento com diuréticos promove uma melhoria clínica sustentada na medida em que promove a vasodilatação.

A natureza e o uso de outros tratamentos de suporte são orientados pelo progresso clínico do gato (Couto & Nelson, 2006).

9.2. Tratamento adulticida

Devido ao facto de os gatos não serem hospedeiros importantes para a transmissão da dirofilariose a outros animais e pela possibilidade de ocorrer cura espontânea, o tratamento adulticida não é recomendado nesta espécie (Couto & Nelson, 2006). Para além disso, existe uma alta prevalência de complicações graves, tais como dispneia grave e até mesmo a morte do animal (ESCCAP, 2009), consequentes à resposta inflamatória exacerbada devido à libertação de *Wolbachia* durante a morte dos parasitas (McCall *et al.*, 2008).

Espera-se que aproximadamente um terço dos gatos tratados com adulticidas tenha complicações tromboembólicas, sendo este risco maior em animais com cargas parasitárias elevadas (Couto & Nelson, 2006). O tromboembolismo poderá ocorrer vários dias até uma semana após a terapia, sendo muitas vezes fatal (Atkins, 2007a).

Não existem estudos que sugiram que a terapia adulticida aumenta a sobrevivência dos gatos naturalmente infectados com dirofilariose (Knight *et al.*, 2002, citados por Venco, 2007).

Este tipo de tratamento deverá assim ser o último recurso para gatos estáveis que continuam a apresentar manifestações clínicas apesar do tratamento conservador e empírico com prednisona (Nelson *et al.*, 2007). Para além disso, os fármacos adulticidas não deverão ser administrados apenas com base no resultado positivo dos testes de detecção de microfírias, de antigénio ou de anticorpo (Couto & Nelson, 2006).

Os únicos fármacos adulticidas eficazes são os compostos arsenicais orgânicos como o dihidroclorato de melarsomina e tiacetarsamida (Couto & Nelson, 2006). Provou-se que a melarsomina é eficaz no extermínio de parasitas adultos bem como imaturos, enquanto o uso de tiacetarsamina não afecta os parasitas imaturos, e tem pouca eficácia em parasitas jovens maturos do sexo feminino (Dillon, 2005).

A eficácia da terapia adulticida pode ser avaliada através de testes serológicos para detectar Ag de parasitas adultos, uma vez que a depuração de antigénios é bastante rápida após a

morte dos parasitas (Genchi *et al.*, 2007b). Estes testes devem ser negativos dentro de 3 a 5 meses se o tratamento adulticida for bem sucedido, sendo o tempo necessário para a seroconversão dos títulos de anticorpos bem maior (Couto & Nelson, 2006).

A sequenciação do genoma de *D. immitis* (Yin *et al.*, 2006) permitiu identificar uma lista de genes específicos suspeitos de ter um papel importante durante o parasitismo e a doença associada. Com base nestes dados, sugeriu-se a existência de um mecanismo de geração de energia na dirofilária adulta diferente da do hospedeiro vertebrado e de um sistema antioxidante. Esse mecanismo pode ser um alvo promissor para a próxima geração de filaricidas e de outros tratamentos que não interfiram com o metabolismo do hospedeiro, tornando-os assim mais seguros para este (Yin *et al.*, 2006).

9.2.1. Tiacetarsamida

A tiacetarsamida tem sido usada em combinação com prednisona, com uma monitorização cuidadosa durante duas semanas (Couto & Nelson, 2006). Em estudos anteriores, quando este composto arsenical era o único disponível no mercado, foram estabelecidos alguns regimes de tratamento adulticida. Preconiza-se assim o mesmo esquema posológico utilizado no tratamento de cães, ou seja, 2,2 mg / kg pv, duas vezes por dia, durante dois dias, foram utilizados em gatos, sendo os resultados discutíveis. Acredita-se que este fármaco tem uma eficácia adulticida menor em gatos, comparativamente com a observada em cães (inferior a 70%) (Litster & Atwell, 2008b) assim como alguma toxicidade em felinos, uma vez que estes eliminam o fármaco mais lentamente em comparação com os cães, ocorrendo frequentemente diversos efeitos secundários tais como anorexia, depressão profunda, náuseas e vômitos (Venco, 2007). Nalguns gatos após a administração de tiacetarsamida, pode ocorrer uma crise respiratória, por vezes fatal, com edema pulmonar não cardiogénico fulminante. A causa para o stress respiratório está possivelmente relacionada com a dilatação arteriolar e os efeitos tóxicos do arsénico sobre a integridade microvascular (Atkins, 2007a) ou com o tromboembolismo consequente da morte dos parasitas (Miller, 1998; Levy, 2007c). A taxa de mortalidade encontrada foi de 30% dos pacientes (Dillon, 1984, Atkins, DeFrancesco, & Coats, 1998, citados por Miller, 1998).

A pré administração de um anti-histamínico ou de um glucocorticoide solúvel antes do início do tratamento com tiacetarsamina, tem sido sugerido, mas a eficácia não é conhecida.

Segundo um estudo clínico retrospectivo realizado por Atkins e seus colaboradores (2000), não foi encontrada nenhuma diferença na taxa de sobrevivência entre gatos que não receberam adulticidas e aqueles que receberam tiacetarsamina (Couto & Nelson, 2006; Levy, 2007c).

9.2.2. Melarsomina

A melarsomina (Immiticide ®), é o único composto adulticida disponível actualmente no mercado veterinário (Venco, 2007), no entanto, existe muito pouca experiência clínica em gatos (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007), e os poucos dados existentes são contraditórios (Atkins, 2005b).

Dados preliminares sugerem que a melarsomina é tóxica para gatos em doses tão baixas como 3,5 mg/kg pv (Nelson *et al.*, 2007).

Este composto tem sido utilizado em gatos infectados experimentalmente com um número conhecido de parasitas adultos. Um estudo mostrou que após a administração de uma dose única (2,5 mg / kg pv IM), a população de filárias foi reduzida em apenas 36%, em comparação com os 50% verificados no cão (Atkins, 2007b; Levy, 2007c; Litster & Atwell, 2008b). Um segundo estudo utilizou o protocolo padrão canino (2 doses, com intervalo de 24 horas) resultando numa taxa de 70% de redução da população parasitária (92% a 93% verificada nos cães). O protocolo alternativo (administração IM de uma dose única, seguido em um mês por 2 doses com intervalo de 24 horas) resultou numa taxa de eficácia de 86% (comparado a 99% em cães) (Atkins, 2007b; Levy, 2007c). Apesar de promissores, estes resultados devem ser interpretados com cautela, uma vez que os parasitas implantados eram jovens (<8 meses de idade), podendo o intervalo de tempo não ter sido suficiente para o desenvolvimento de anticorpos, reduzindo assim o risco de anafilaxia (Atkins, 2005b; Atkins, 2007b).

Até à actualidade, não existem dados suficientes do uso de melarsomina em gatos com infecção natural por *D.immitis*, e os poucos relatos que existem são desfavoráveis, com uma mortalidade inaceitável dos animais (Atkins, 2007b).

Assim, devido ao risco inerente e à falta de benefício, a sua administração não é recomendada (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007).

9.3. Tratamento microfilaricida

Na espécie felina o tratamento microfilaricida geralmente não é necessário uma vez que 80% dos gatos não apresentam microfilarémia (Miller, 1998) e quando existe, esta tem ocorrência breve (Couto & Nelson, 2006).

No entanto, a ivermectina (24 µg/kg pv PO) e a milbemicina (2 mg/kg pv PO) têm sido usadas de forma eficaz como fármacos microfilaricidas, promovendo a ausência de microfilarémia três a doze meses após o início do tratamento (Miller, 1998; Couto & Nelson,

2006). Contudo, nenhum destes fármacos está aprovado para esta indicação terapêutica (Couto & Nelson, 2006)

9.4. Tratamento anti-*Wolbachia*

A *Wolbachia* pode ser eliminada dos parasitas *D.immitis* através de antibioterapia (Kramer, 2007). Se considerarmos a *Wolbachia* como uma potencial causa de inflamação no curso da doença filarial, o esgotamento das bactérias será benéfico, independentemente do seu efeito sobre o filarídeo (Kramer, 2007).

A dinâmica da população destas bactérias pode explicar a actividade diferencial do tratamento antibiótico bacteriostático em distintas etapas de desenvolvimento do ciclo de vida do parasita (Kramer, 2006a).

A depleção de *Wolbachia* geralmente é acompanhada por efeitos anti-inflamatórios, incluindo: inibição do desenvolvimento larvar (estudos mostram que quando há administração de antibiótico a hospedeiros infectados, ocorre inibição da muda das larvas, ou seja, há inibição de um processo essencial na maturação para adultos), esterilidade das fêmeas e efeito adulticida (ESCCAP, 2009; Al Genchi *et al.*, 1998; Brandi *et al.*, 1999, citados por Kramer 2007).

As tetraciclina (nomeadamente a doxiciclina) são eficazes nas infecções com filarídeos albergando *Wolbachia* (Nelson *et al.*, 2007), inibindo o seu desenvolvimento inicial e bloqueando a sua embriogénese, presumivelmente pela eliminação da bactéria (Taylor *et al.*, 2005; McCall *et al.*, 2008).

Bandi e seus colaboradores (1999, citados por Kramer, 2006a) relataram que em estudos efectuados com cães naturalmente infectados com *D.immitis* não houve diferença na concentração de dirofilárias entre os animais tratados com Doxiciclina, na dose de 20 mg/kg/dia durante 30 dias, e o grupo controlo. No entanto, quando o conteúdo uterino desses parasitas foi analisado, apresentavam alterações morfológicas, com uma diminuição drástica no número de microfilárias, indicando assim que o tratamento foi capaz de bloquear a embriogénese, causando esterilidade das fêmeas de *D.immitis* (Kramer, 2006a; Levy, 2007a, McCall *et al.*, 2008). Além disso, larvas L3 recolhidas de mosquitos que se alimentaram de sangue de cães microfilarémicos tratados com Doxiciclina eram normais em aparência e motilidade mas não eram capazes de se desenvolver noutros animais (McCall *et al.*, 2008).

Estudos preliminares têm mostrado que a administração de doxiciclina a cães infectados antes do tratamento adulticida com melarsomina, pode ajudar a reduzir as reações pró-inflamatórias causadas pela morte dos parasitas adultos (verificado pelos menores níveis de

anticorpos contra *Wolbachia* e de interleucina 8) (Kramer, 2007), assim como a menor gravidade da inflamação perivascular a nível pulmonar (Simón *et al.*, 2009).

Surgem assim novas opções terapêuticas para a dirofilariose, tendo como base o facto da morte dos parasitas livres de *Wolbachia* estimularem uma inflamação menos intensa no hospedeiro. Como exemplo, o tratamento com doxiciclina antes da terapia adulticida ou quando a terapia adulticida é contra-indicada, como acontece nos gatos (Levy, 2007c; McCall *et al.*, 2008). A eliminação da bactéria pode permitir que os gatos convivam de forma mais confortável com a sua infecção, mesmo não ocorrendo uma cura real (Levy, 2007a).

9.5. Tratamento cirúrgico

Várias abordagens têm sido descritas para a remoção cirúrgica de parasitas adultos em felinos, embora estas sejam tecnicamente desafiantes (Couto & Nelson, 2006). Mesmo não sendo possível frequentemente recuperar todos os parasitas, a cirurgia pode ser uma alternativa razoável para apoiar o tratamento sintomático e/ou adulticida em animais com elevadas cargas parasitárias ou em estado crítico (Nelson *et al.*, 2007), para além de minimizar o risco de tromboembolismo (Atkins, 2007a). Esta opção de tratamento é indicada especificamente nos poucos casos em que se desenvolve síndrome da veia cava (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007; Venco, 2007).

Os parasitas localizados na aurícula direita e na veia cava são alcançados através de venotomia jugular direita (Brown *et al.*, 1998; Borgarelli *et al.*, 1997; Rawlings *et al.*, 1994, citados por Couto & Nelson, 2006; Litster & Atwell, 2008b).

Small e os seus colaboradores (2008) utilizaram, para a remoção de *D. immitis* adultas em dois gatos, um catéter de laço pescoço de ganso em nitinol (“nitinol gooseneck snare catheter”) através de venotomia jugular. Estes autores consideraram-na uma técnica segura e eficaz para a remoção dos parasitas da aurícula e ventrículo direitos (Small *et al.*, 2008).

A taxa de sucesso de extração dos parasitas por venotomia jugular foi de 96%, num ensaio desenvolvido por Atwell e Litster (2002).

A realização de toracotomia direita e de atriectomia também têm sido utilizadas com sucesso. Os parasitas localizados dentro da artéria pulmonar são extraídos utilizando-se toracotomia esquerda e arteriotomia pulmonar (Couto & Nelson, 2006; Litster & Atwell, 2008b).

Antes de se tentar qualquer abordagem cirúrgica, os parasitas devem ser localizados por meio ecográfico, objectivando a possibilidade de alcançá-los (Nelson *et al.*, 2007).

Quando se realiza esta prática cirúrgica, deverá existir a preocupação da ocorrência de reacções anafiláticas, potencialmente fatais, associadas à dissecação traumática dos parasitas durante o procedimento (Venco, 2007), com libertação de grandes quantidades de

antigénio (Brown *et al.*, 1999, citados por Litster *et al.*, 2008a; Litster & Atwell, 2008b). Assim, deverá existir um pré tratamento com glucocorticóides e anti-histamínicos (Couto & Nelson, 2006), ou atropina (Litster *et al.*, 2008a).

A administração de heparina com o objectivo de reduzir eventos tromboembólicos associados à remoção cirúrgica dos parasitas não está esclarecida quanto à sua eficácia (Couto & Nelson, 2006).

De acordo com um relatório da Universidade da Califórnia, em que a remoção cirúrgica dos parasitas foi realizada em 9 gatos (5 por toracotomia e 4 por venotomia jugular), 8 sobreviveram, verificando-se mesmo uma melhoria clínica significativa (Levy, 2007c).

De acordo com Small e os seus colaboradores (2008) a remoção dos parasitas adultos, mesmo que não a totalidade, resolve os sinais clínicos de insuficiência cardíaca direita congestiva e de quilotórax em aproximadamente 4 semanas após o procedimento.

10. Profilaxia

A dirofilariose é uma doença com resultados imprevisíveis (Nelson *et al.*, 2005; Genchi *et al.*, 2008, citados por Venco *et al.*, 2008b), que pode ser potencialmente fatal para uma variedade de espécies animais (Genchi *et al.*, 2007a), e o seu tratamento acarreta sérios riscos para o animal hospedeiro (Calvert *et al.*, 1994; Miller, 1998, citados por McTier *et al.*, 2000), nomeadamente devido à toxicidade dos fármacos adulticidas e ao alto risco de tromboembolismo fatal (Nelson *et al.*, 2005, citados por Venco *et al.*, 2008b).

No entanto, é uma doença que pode ser prevenida, devido à disponibilidade de medicamentos altamente eficazes. Estes são seguros e de fácil administração (Genchi *et al.*, 2007a), sendo assim a melhor opção em áreas de risco da doença (Labarth *et al.*, 1997; Miller *et al.*, 1998; Genchi *et al.*, 1998, citados por Kramer & Genchi, 2002; Tuzio *et al.*, 2005; Levy, 2007c). Segundo as orientações da AHS, a terapêutica preventiva é recomendada para todos os gatos com mais de oito semanas de idade, que vivam em áreas onde a dirofilariose é considerada endémica em cães e a exposição aos vectores seja possível (Nelson *et al.*, 2005, citados por Genchi *et al.*, 2007a; Nelson. *et al.*, 2007).

Devido à necessidade da existência do mosquito como hospedeiro intermediário para a transmissão da dirofilariose, nos países mais a Norte da Europa, é prática corrente interromper a quimioprofilaxia durante os meses de Inverno. Em climas mais quentes, onde os mosquitos podem ser encontrados durante todo o ano, a profilaxia anual contínua tem sido praticada (Atkins & Paul, 2006).

Quando a quimioprofilaxia mensal é a eleita, esta deve ser administrada durante o período sazonal de transmissão da doença (Nelson *et al.*, 2007), começando dentro de 30 dias após

o início estimado da temporada, e continuado até 30 dias após a temporada ter terminado (ESCCAP, 2006; Venco *et al.*, 2008b). Na maior parte da Europa, onde a infecção por *D.immitis* é endémica, a estação de transmissão dura geralmente de Abril a Outubro (ESCCAP, 2006). A administração mensal ao longo da época de transmissão é eficaz contra as L3 e L4 que se desenvolveram nos últimos 30 dias, evitando assim doença causada pelos parasitas adultos (ESCCAP, 2009).

No caso de se optar pela administração contínua anual, recomendada actualmente (Atkins & Paul, 2006; Nelson *et al.*, 2005, citado por Genchi *et al.*, 2007a), existem vantagens, tais como a profilaxia para alguns parasitas intestinais, ou até mesmo parasitas externos, maior cooperação e cumprimento por parte dos donos e maior eficácia retroactiva como salvaguarda para as doses omitidas (Atkins & Paul, 2006; ESCCAP, 2006; Nelson *et al.*, 2007).

Vários fármacos derivados de lactonas macrocíclicas estão disponíveis actualmente para a prevenção da dirofilariose em gatos: as avermectinas (Selamectina e ivermectina) e as milbemicinas (milbemicina oxima e moxidectina). Todos os fármacos possuem uma elevada afinidade para os receptores das membranas neuronais dos nemátodes, levando ao influxo de iões de cloro, seguido por hiperpolarização, paralisia neuromuscular e morte do parasita (Couto & Nelson, 2006; Olsen, 2006).

A administração prolongada dos referidos fármacos profilácticos tem acção sobre as larvas jovens (1-2 meses após infecção), assim como em parasitas imaturos (3-5 meses), jovens adultos (6-7 meses), e / ou adultos em idade (mais de 8 meses). Uma eficácia de 95% ou mais exige a administração durante 9 a 30 meses, dada a dificuldade na lise dos parasitas adultos, sendo a ivermectina a mais potente, seguida da selamectina e moxidectina, e por último a milbemicina oxima (McCall, 2005).

Estes agentes, nomeadamente as avermectinas, possuem uma ampla margem de segurança em mamíferos (Couto & Nelson, 2006) e um elevado índice terapêutico (McKellar & Benchaoui, 1996 citados por Six *et al.*, 2000).

10.1. Ivermectina

A ivermectina é comercializada para utilização como agente profiláctico em gatos, administrada por via oral na dose de 24 µg/kg pv (Heartgard®) (McTier *et al.*, 1992b, citados por Genchi *et al.*, 2007a). O tratamento mensal durante um período de um ano tem mostrado 100% de eficácia deste fármaco na prevenção do desenvolvimento de larvas de *D. immitis*, mesmo quando administrada 30 ou 45 dias depois da inoculação com larvas

infectantes (Miller, 1998), e mantendo-se eficaz mesmo com lapsos de dois meses na sua administração (Genchi *et al.*, 2007a).

Atkins e Paul (2006) referem que a ivermectina tem uma eficácia que pode chegar a 100% com uma administração prolongada e contínua, possuindo acção contra *D. immitis* em desenvolvimento e um efeito de morte lenta nos adultos, com inibição precoce da embriogénese (McCall, 2005 citados por McCall *et al.*, 2008). Quanto mais precoce for o tratamento, menor é o tempo de sobrevivência dos parasitas e menor será o seu desenvolvimento. As formas de *D. immitis* que já se encontrem completamente desenvolvidas no início do tratamento não reduzem o seu número, mas a massa parasitária é reduzida pelo menos em 20% (McCall *et al.*, 2008).

10.2. Milbemicina Oxima

A milbemicina também é conhecida por ser eficaz na profilaxia da dirofilariose em gatos, na dose mínima recomendada de 2 mg/kg pv PO mensalmente (Couto & Nelson, 2006; Levy, 2007c). O tratamento mensal com este fármaco durante um ano mostrou uma eficácia de apenas 41,5% a 49,3%, como profilaxia clínica do agente (Genchi *et al.*, 2007a). Stewart, Hepler & Grieve (1992) avaliaram a eficácia da milbemicina oxima como um agente quimioprofilático em gatos, em que foram inoculadas larvas infectantes de *D. immitis*. Um único tratamento oral com 2,3 mg de milbemicina oxima (0,5 a 0,9 mg / kg de peso corporal) 30 ou 60 dias após a inoculação com larvas infectantes resultou numa forte, mas incompleta protecção.

A nível Europeu, a milbemicina oxima está disponível em combinação com o praziquantel (5 mg / kg pv) (Milbemax ®), sendo um medicamento também eficaz para o tratamento e controlo de outros endoparasitas (McTier *et al.*, 2000; Genchi *et al.*, 2007a). O praziquantel fornece um amplo espectro de eficácia anti-helmítico contra céstodes, não sendo conhecida a sua actividade contra *D. immitis* (Andrews *et al.*, 1983 citado por Genchi *et al.*, 2004), de modo que a eficácia para o parasita observada é assim atribuída exclusivamente à milbemicina oxima (Genchi *et al.*, 2004).

Genchi *et al.* (2004) evidenciaram, através de um estudo, que o fármaco na dose de 2 mg / kg pv apresenta uma elevada margem de confiança e eficácia na prevenção da dirofilariose em gatos, compensando pequenos erros na administração do medicamento por parte dos proprietários.

10.3. Selamectina

A selamectina é um endectocida (Six *et al.*, 2000), seguro para uso em gatos a partir de seis semanas de idade, incluindo os infectados por dirofilariose, tal como em gatos na idade de reprodução (Krautmann *et al.*, 2000). O fármaco mostrou-se 100% eficaz na prevenção desta parasitose quando administrado mensalmente por via tópica (“spot on” ou unção punctiforme) na dose de 6 mg / kg pv, não se verificando nenhum tipo de efeitos adversos (Krautmann *et al.*, 2000; Genchi *et al.*, 2007a).

A selamectina (Stronghold®) está aprovada na Europa e nos Estados Unidos para prevenção de infecções por dirofilariose em cães e gatos. McTier e os seus colaboradores (2000) demonstraram que quando administrada metade da dose recomendada, ou seja, 3 mg / kg pv, 30 dias após a inoculação das larvas L3, a selamectina mantém-se 100% eficaz, assim como quando há administração da dose recomendada 45 após infecção, simulando um atraso de 15 dias, ou 60 dias pós-infecção, simulando uma falha mensal (McTier *et al.*, 2000). Vários estudos comprovaram também a sua segurança quando administrado a cães e gatos infectados naturalmente (Genchi *et al.*, 2007a).

Uma importante característica da selamectina é o facto de ser administrada numa formulação tópica, evitando assim problemas associados à administração oral (Genchi *et al.*, 2007a). Beck (2007) defende que o uso tópico do fármaco é vantajoso na medida em que constitui um meio seguro e eficaz, com stress mínimo para o animal e um cumprimento máximo da parte dos proprietários.

Na dose recomendada para a prevenção da dirofilariose em cães e gatos (6 mg / kg pv), a selamectina também apresenta um largo espectro de actividade antiparasitária ecto e endectocida (Maggie & David, 2008), sendo eficaz na prevenção e controle de infestações por pulgas (*Ctenocephalides felis*), no tratamento e controlo de ácaros auriculares (*Otodectes cynotis*), ancilostomídeos (*Ancylostoma* spp) e lombrigas (*Toxocara* spp) (Six *et al.*, 2000; Genchi *et al.*, 2007a).

Assim, a selamectina constitui uma lactona macrocíclica com eficácia e perfil de segurança favoráveis, o que justifica a sua comercialização para cães e gatos (Six *et al.*, 2000; Maggie & David, 2008)

10.4. Moxidectina

A moxidectina é um endectocida com um amplo espectro de acção, possuindo um elevado volume de distribuição nos tecidos do hospedeiro e um longo tempo de semi-vida, originando assim uma prolongada actividade contra os parasitas alvo (Olsen, 2006).

Actualmente existe no mercado um medicamento, para aplicação tópica, em unção puntiforme, para aplicação mensal, contendo 1% de Moxidectina e 10% de Imidaclopride (Advocate®), sendo 100% eficaz na prevenção da dirofilariose (larvas L3 e L4 de *D.immitis*), assim como no tratamento contra as pulgas (*Ctenocephalides felis*), nemátodes gastrointestinais (*Toxocara cati* e *Ancylostoma*) e ácaros auriculares (*Otodectes cynotis*) (Arther, Charles, Ciszewski, Davis & Settje, 2005; Beck, 2007; Arther *et al.*, 2003, Arther *et al.*, 2005, Fourie *et al.*, 2003, Reinemeyer & Charles, 2003, citados por Venco *et al.*, 2008b). Venco e os seus colaboradores (2008b) realizaram um estudo em que 132 gatos foram tratados de forma profiláctica contra a dirofilariose (incluindo animais com teste de detecção de Ac, de Ag e /ou ecocardiografia positivos), com a combinação moxidectina / imidaclopride administrada mensalmente, durante 6 meses. Os referidos gatos foram re-examinados para a doença um mês após a última administração do fármaco e 7 a 8 meses após o último tratamento. Todos os gatos, quer aqueles com testes negativos, quer os com testes positivos para a dirofilariose antes do tratamento, apresentaram-se negativos nos dois exames realizados no final do estudo. Ao longo do tratamento, sialorreia transitória e sinais de prostração foram reportados pelos proprietários em 4,5% dos gatos. Todos estes sinais regrediram espontaneamente (Venco *et al.*, 2008b).

Este agente quimioprofiláctico foi considerado seguro e eficaz, mesmo quando administrado em gatos infectados experimentalmente com um elevado número de parasitas adultos e com alto risco de transmissão (Arther *et al.*, 2005, citados por Venco *et al.*, 2008b).

Até ao momento, nenhum estudo de campo foi realizado com a combinação moxidectina / imidaclopride, em gatos naturalmente expostos à infecção pelo parasita *D.immitis* (Venco *et al.*, 2008b).

Quanto à combinação existente no mercado, com uma eficácia de 100% para a prevenção da dirofilariose, Arther e os seus colaboradores (2005) demonstraram, através de um ensaio, que o composto Imidaclopride isoladamente não impede o desenvolvimento de infecções por dirofilárias adultas em gatos, mas que também não interfere com a actividade da moxidectina contra o desenvolvimento dos parasitas na formulação combinada.

É importante que antes de se iniciar qualquer tipo de prevenção, os animais sejam testados para a presença de antígenos circulantes, e que estes testes sejam repetidos periodicamente, nomeadamente no início de todas as temporadas sazonais de transmissão (AHS, 2010; Genchi *et al.*, 2007b), principalmente em zonas endémicas (ESCCAP, 2009). Embora as orientações ainda não estejam totalmente desenvolvidas e avaliadas, considera-se prudente estabelecer este critério serológico para uma referência futura, no caso de se tornar necessário re-testar um gato sujeito a quimioprofilaxia (Nelson *et al.*, 2007).

Os testes serológicos devem ser realizados um mínimo de seis meses após a última administração de um dos compostos macrolídeos. Também se aconselha a repetição dos testes no início de cada estação de transmissão, antes do início do tratamento, a fim de excluir a possibilidade de infecção devido ao deficiente cumprimento efectivo durante a última temporada, ou para verificar que não houve infecção pré-existente. A re-análise é aconselhável mesmo quando o quimioprofilático é utilizado continuamente (durante todo o ano), devido ao baixo cumprimento efectivo global verificado (Atkins & Paul, 2006; Genchi *et al.*, 2007a).

O teste de detecção de Ac anti-*D.immitis* também é recomendado antes de se iniciar a quimioprofilaxia (AHS, 2010), no entanto, poderá ter pouca utilidade uma vez que a maioria dos gatos que apresenta resultados positivos nestes testes, foi apenas transitoriamente infectada com o quarto estado larvar. Além disso, efectuar testes para a detecção de anticorpos em gatos que já recebem quimioprofiláticos não oferece mais-valias, pois a exposição frequente a larvas, mesmo quando são eliminadas por esses fármacos, também promove a produção de anticorpos (Levy, 2007b; Nelson *et al.*, 2007).

O teste para detecção de microfilárias é desnecessário em gatos, uma vez que estes animais raramente apresentam microfilarémia, ou quando presente, os níveis de concentração são insuficientes para desencadear uma reacção adversa à medicação profiláctica (Miller, 1998; ESCCAP, 2006; Nelson *et al.*, 2007). Adicionalmente as lactonas macrocíclicas (excepto a milbemicina) provocam uma morte lenta das microfilárias, existindo assim um risco mínimo (Atkins, 2005b; Atkins & Paul, 2006).

No entanto, algumas precauções devem ser tomadas, como por exemplo manter o animal em observação após a administração da primeira dose do fármaco (Atkins & Paul, 2006; Atkins, 2007a).

11. Monitorização de gatos infectados

No caso de gatos infectados com o parasita, Couto e Nelson (2006) recomendam a realização de testes serológicos, com intervalos de 6 a 12 meses, para efeitos de monitorização do estado de infecção. Estes testes devem ser realizados a todos os animais infectados, independentemente de apresentarem sinais clínicos, ou terem recebido tratamento sintomático, adulticida ou cirúrgico (Nelson *et al.*, 2007).

Este acompanhamento será mais eficiente se forem incluídos tanto os testes para a detecção de anticorpos anti-*D.immitis*, como os testes para a detecção de antígeno.

O intervalo de re-análise deve ser coerente com as circunstâncias clínicas de cada animal. Para gatos assintomáticos é suficiente a realização dos testes anualmente, sendo o

intervalo encurtado para 4 a 5 meses no caso dos gatos que apresentem um resultado positivo para antígeno. Em animais clinicamente normais e com resultado negativo no teste de detecção de Ag, a repetição dos testes para a detecção de Ac é opcional, visto que estes persistem por um período indeterminado de tempo após a eliminação do parasita. Para além disso, mesmo que os gatos sejam submetidos a profilaxia, se a exposição ao parasita se mantiver, podem apresentar resultados positivos nos testes para a detecção de anticorpos (Nelson *et al.*, 2007).

Atkins (2005b) defende que gatos infectados com dirofilária devem ser sujeitos a uma profilaxia mensal e uma terapia de curto prazo com corticosteróides (prednisona, 1-2 mg / kg pv q 48h-tid) para controlar os sinais respiratórios característicos da doença.

12. Prognóstico

A infecção por *Dirofilaria immitis* é actualmente reconhecida como uma potencial causa de doença grave no gato, com risco de vida (Genchi *et al.*, 1992, McCall *et al.*, 1994 & Atkins *et al.*, 2000 citados por Genchi, Venco, Ferrari, Mortarino & Genchi, 2008), podendo apresentar um desafio clínico e diagnóstico para a prática dos clínicos veterinários (Kramer & Genchi, 2002).

Venco e os seus colaboradores. (2008a) referem que o prognóstico para os gatos infectados com dirofilária deve ser sempre considerado reservado, devido ao tamanho relativamente pequeno do animal comparativamente com a biomassa do parasita, o que leva a admitir que os felinos estão sempre fortemente infectados, mesmo com o número reduzido de filárias.

Atkins e os seus colaboradores (2000) observaram que num grupo de 50 gatos naturalmente infectados com *D. immitis*, cinco tiveram morte súbita num curto período de tempo após o início dos sinais clínicos e o tempo de sobrevivência da maioria dos restantes animais, após o diagnóstico da infecção, não foi maior do que 1,5 anos (Kramer & Genchi, 2002). A probabilidade de morte ou morte súbita aumentou significativamente com a idade no momento do diagnóstico, mas não foi detectada diferença por sexo ou com a presença ou ausência de sintomas (Genchi *et al.*, 2008).

Neste mesmo estudo, verificou-se que o tempo de sobrevivência (média de 1669 dias) dos gatos sujeitos a tratamento adulticida não foi significativamente diferente dos que não receberam o fármaco (1107) (Atkins, 2005b). O mesmo autor observou igualmente que em animais mais jovens, com sinais de dispneia e tosse ou com dirofilárias observadas à ecografia, estes não são factores que aparentemente afectem a sobrevivência dos animais infectados (Atkins, 2005b; Atkins, 2007a).

Num estudo realizado por Genchi e seus colaboradores (2008) cerca de 79% dos gatos foram capazes de debelar e sobreviver à infecção, sendo esta percentagem muito superior à apresentada por Atkins e os seus colaboradores (2000), onde apenas 18% dos 50 gatos foram considerados como tendo sobrevivido à infecção por dirofilariose (Genchi *et al.*, 2008). Atkins (2007a) considera que o prognóstico da dirofilariose felina é, em geral, comparável ao da cardiomiopatia hipertrófica, a mais benigna das doenças cardíacas primárias em gatos. No entanto, de acordo com o estudo realizado por Genchi e seus colaboradores (2008), gatos infectados com dirofilariose sobreviveram significativamente mais tempo do que os gatos sem esta parasitose, mas afectados com cardiomiopatia hipertrófica, insuficiência renal crónica ou doenças neoplásicas. Ainda assim, a falta de diferença estatística na duração da doença entre os gatos sintomáticos “versus” assintomáticos, independentemente da idade do diagnóstico e do início dos sintomas confirma a imprevisibilidade dos resultados da infecção pelo parasita *D.immitis*, e sugere que cada gato é capaz de reagir e tolerar a infecção de uma forma individual (Genchi *et al.*, 2008).

13. Importância da Dirofilariose em Saúde Pública

A infecção com nemátodes filarídeos (*Brugia malayi*, *Onchocerca volvulus* e *Wuchereria bancrofti*) é considerada um grave problema de saúde em humanos e animais. Actualmente sabe-se que a nível mundial mais de 140 milhões de pessoas estão infectadas com este tipo de parasitas, sendo os responsáveis pela maioria dos casos humanos da doença filarial (Ottesen 1992, 1995, citado por Genchi *et al.*, 2005a).

A dirofilariose em cães e gatos é causada por outro nemátode filarial, nomeadamente a *Dirofilaria immitis* (Boreham & Atwell, 1988, citados por Genchi *et al.*, 2005a).

A dirofilariose pulmonar nos humanos é uma doença rara (menos de 200 casos foram relatados na literatura mundial dos quais pelo menos dez na Europa) (Nozais *et al.*, 1994, citados por Genchi, Rinaldi, Mortarino & Cringoli, 2009), tratando-se de uma zoonose benigna (Echeverri, Long, Check & Burnett, 1999).

De 1965, ano em que o primeiro caso de dirofilariose pulmonar foi relatado, a 1989, foram relatados 165 casos, a maioria ocorrentes em três áreas definidas (Estados Unidos, Japão e Austrália) (Vélez *et al.*, 2001 citados por Genchi *et al.*, 2005b; Klotchko, 2010). No entanto, nos 13 anos seguintes (1990 a 2003), pelo menos 130 casos foram relatados em 15 países (Pampiglione & Rivasi, 2000; Pampiglione *et al.*, 2001; Cordonnier *et al.*, 2002, citados por Genchi *et al.*, 2005b). Estudos epidemiológicos actuais indicam assim que os números de prevalência da infecção humana estão a aumentar, provavelmente devido ao aumento da consciência médica, assim como aumento dos animais considerados reservatórios e

densidade do vector responsável pela transmissão (Genchi, Simón & Kramer, 2005b; Klotchko, 2010).

O aquecimento global previsto pelo Painel Intergovernamental sobre Mudança do Clima sugere que os Verões quentes são adequados à transmissão do parasita na Europa, com tendência para a infecção se tornar mais comum e eventualmente se propagar para áreas ainda consideradas livres (Klotchko, 2010).

Estudos seroepidemiológicos têm fornecido evidências que na União Europeia a distribuição geográfica de dirofilariose em humanos coincide com a observada em cães (Genchi *et al.*, 2005b; Simón, López-Belmonte, Marcos-Atxutegi, Morchón, & Martín-Pacho, 2005; Klotchko, 2010), sendo a maioria dos casos notificados nos países do sul (Muro *et al.*, 1999). O país com mais casos diagnosticados foi Itália (66%), seguido pela França (21,7%), Grécia (8%) e Espanha (4%) (Muro *et al.*, 1999; Klotchko, 2010). Existem relatos de alguns casos no norte da Europa, no entanto estes têm sido atribuídos a infecções adquiridas durante viagens a países endémicos (Muro *et al.*, 1999; Klotchko, 2010).

Num estudo recentemente realizado por Morchón, Moya, González-Miguel, Montoya & Simón (2010) mostrou-se que a seroprevalência nos residentes humanos de uma província espanhola endémica de dirofilariose canina é de 11,6%. Estes valores indicam que o contacto humano com estes parasitas é mais frequente do que o mostrado pelo número de casos notificados e que a maioria das pessoas não desenvolve sintomas (Muro *et al.*, 1999; Narine, Brennan, Gilfillan & Hodge, 1999). Conclui-se assim que esta parasitose em humanos é muitas vezes sub-diagnosticada (Muro *et al.*, 1999).

Em termos epidemiológicos, as mulheres são mais afectadas que os homens e a faixa de distribuição etária que mostra uma maior incidência de casos é após os 40 anos de idade, em ambos os sexos (Muro *et al.*, 1999). Klotchko (2010) justifica esta prevalência pelo facto de os adultos estarem mais propensos a realizar radiografia de tórax como rotina.

O homem é considerado um hospedeiro acidental terminal (Echeverri *et al.*, 1999; Genchi *et al.*, 2005a), não se verificando o desenvolvimento das larvas em parasitas adultos, nem a presença de microfilarémia (Muro *et al.*, 1999; Simón *et al.*, 2003; Simón *et al.*, 2007b; Simón *et al.*, 2009; Klotchko, 2010), uma vez que as larvas são frequentemente destruídas pelo sistema imunitário humano (Simón *et al.*, 2005).

O mosquito (gênero *Anopheles*, *Aedes*, *Culex*) infectado pelos cães microfilarémicos injecta as larvas nos humanos, onde amadurecem no tecido subcutâneo. Quando o parasita é capaz de sobreviver no tecido subcutâneo humano, migra para o ventrículo direito, onde se desenvolve em parasitas sexualmente imaturos. Aqui o parasita morre, embolizando para a artéria pulmonar, posteriormente reflectida pelo aparecimento de um nódulo solitário na periferia do pulmão (Echeverri *et al.*, 1999; Cordero *et al.*, 1992; Orihel & Eberhard, 1998,

citados por Genchi *et al.*, 2005b;). O referido nódulo corresponde a um granuloma que incorporou uma larva L5 (Theis, 2005).

Embora estes nódulos sejam geralmente identificados acidentalmente na radiografia de tórax em pacientes assintomáticos, a lesão geralmente presume-se como sendo neoplásica (Echeverri *et al.*, 1999; Simón *et al.*, 2007b; Klotchko, 2010) ou outras condições patológicas, tais como, tuberculose, infecções fúngicas ou hematomas (Muro *et al.*, 1999; Narine *et al.*, 1999; Trunk *et al.*, 1974, Toomes *et al.*, 1983 & Allison *et al.*, 2004, citados por Theis, 2005). Estas lesões requerem um extenso trabalho clínico que normalmente culmina numa toracotomia, uma técnica invasiva, desnecessária no caso de ser dirofilariose humana (Theis, 2005; Klotchko, 2010). Assim, é de extrema importância a consciência desta entidade no diagnóstico diferencial de lesões pulmonares, (Echeverri *et al.*, 1999).

O diagnóstico definitivo é feito por excisão cirúrgica (Echeverri *et al.*, 1999), no entanto, a serologia apresenta-se como uma alternativa vantajosa uma vez que evita a intervenção que acarreta alguns riscos.

Simón e os seus colaboradores (2003) demonstraram que nas áreas em que a dirofilariose canina é endêmica, as pessoas clinicamente saudáveis possuem frequentemente testes de Ac e Ag positivos para *D. immitis*. Os valores de seroprevalência em três áreas do sul da Europa variam de 26 a 37%. A elevada seroprevalência em indivíduos saudáveis em áreas endêmicas dificulta o diagnóstico serológico da dirofilariose pulmonar em humanos realmente infectados (Simón *et al.*, 2003). Estudos serológicos demonstraram perfis diferentes de anticorpos em humanos: a IgG e IgM contra *D. immitis* foram detectadas tanto em indivíduos saudáveis como em pacientes com lesões pulmonares, no entanto a resposta a anticorpos IgE não foi observada em pacientes saudáveis. A avaliação dos perfis de imunoglobulina poderia assim ajudar no diagnóstico, no entanto, a IgG, IgM, IgE variam ao longo do ano. Assim, a titulação de IgG anti-proteína de superfície *Wolbachia* pode-se tornar útil para aplicação de diagnóstico, uma vez que é consistentemente detectável apenas em pacientes com nódulos pulmonares (Simón *et al.*, 2003). Baseado nos resultados do estudo de Simón (2003), pode-se concluir que a titulação de IgG anti-PSW parece ser um instrumento muito promissor para o diagnóstico de dirofilariose pulmonar, possivelmente em conjunto com a titulação de IgE contra antígenos de *D. immitis*. A positividade destes testes deve ser complementado pelas características radiológicas, os antecedentes clínicos e a área onde o paciente vive, de modo a que o médico possa decidir se quer ou não recorrer ao uso de técnicas invasivas para chegar ao diagnóstico definitivo (Muro *et al.*, 1999).

A presença de dirofilariose canina e / ou vetores adequados indica que a dirofilariose em humanos pode ser encontrada (Muro *et al.*, 1999).

Geralmente os pacientes são assintomáticos (Muro *et al.*, 1999; Narine *et al.*, 1999) (mais de 50% segundo Theis (2005)), mas quando apresentam sintomas, estes podem incluir tosse,

dor torácica, febre, calafrios e em alguns casos hemoptise (Echeverri *et al.*, 1999, Genchi *et al.*, 2005a).

A prevenção da infecção no hospedeiro canino e o desenvolvimento de uma técnica de diagnóstico serológico confiável são factores importantes no controlo da dirofilariose humana (Genchi *et al.*, 2005b).

III. PROJECTO SADO

1. Introdução e Objectivos

Na zona do Estuário do Sado (Distrito de Setúbal) a prevalência da dirofilariose canina chega atingir os 51%. Esta doença é bem conhecida da população Médico-veterinária e até os proprietários estão sensibilizados para realizar a sua prevenção e pesquisa em caso de sintomas clínicos compatíveis.

Tal como já referido, os estudos realizados em alguns países confirmaram que em zonas endémicas de Dirofilariose canina, a prevalência desta doença em gatos também é elevada (cerca de 5-10% da verificada em cães).

Apesar do mesmo parasita infectar o gato e poder até resultar na morte do mesmo, esta doença passa muitas vezes despercebida. Provavelmente, isto deve-se em parte ao facto de os sintomas clínicos no gato serem completamente diferentes dos manifestados pelo cão e não serem reconhecidos pelo Médico Veterinário, sendo possivelmente muitas vezes diagnosticados como asma felina, devido à sintomatologia respiratória presente em ambas as doenças.

Assim sendo, é importante clarificar a situação da prevalência da dirofilariose felina no nosso país e sensibilizar os colegas e proprietários para esta doença e sua prevenção.

Até há muito pouco tempo não se encontravam disponíveis testes que nos permitissem realizar o diagnóstico da dirofilariose no gato, uma vez que estes animais possuem normalmente uma carga parasitária muito baixa, sendo os testes existentes para o cão ineficientes na detecção do parasita no gato. Neste momento já existe um teste fidedigno e mais sensível, para a detecção de antígenos de dirofilaria em gatos. Com o apoio dos laboratórios IDEXX (que forneceu os testes SNAP® Feline Triple®), uma pequena amostra de gatos residentes na zona do Sado, nomeadamente, Setúbal, Moita e Palmela, foi testada para a presença de antígeno de *Dirofilaria immitis*. Concomitantemente o teste permite também avaliar a presença de antígeno de FeLV e anticorpo de FIV.

Este projecto teve o apoio de várias clínicas/hospitais veterinários da zona de Setúbal, com uma participação activa, designadamente, da “Vetset” em Palmela e Setúbal, do “Hospital de Medicina Veterinária de Setúbal” e da “M-vet” localizada na Moita, onde foram realizados a maioria dos testes, assim como da “Associação dos amigos dos animais abandonados da Moita” (AAAAM).

Os objectivos deste estudo foram a determinação da prevalência da dirofilariose em gatos numa zona endémica da doença em cães, a divulgação da doença para uma maior sensibilização da comunidade médico-veterinária e proprietários, assim como a determinação e comparação dos factores de risco para a doença (estilo de vida, contacto

com cães infectados, doenças concomitantes como o FIV e FeLV, entre outros). O projecto teve uma duração aproximada de 4 meses (Março a Julho).

2. Materiais e métodos

2.1. Caracterização da área geográfica do estudo

A Península de Setúbal está integrada na Região da Grande Lisboa, abrangendo nove municípios (Alcochete, Almada, Barreiro, Moita, Montijo, Palmela, Seixal, Sesimbra e Setúbal) numa área de 1518 Km², sendo limitada a norte pelo estuário do Tejo e a sul pelo estuário do Sado.

A reserva natural do estuário do Sado ocupa uma área total de 23.160 hectares, integrados nos concelhos de Setúbal, Alcácer do Sal, Grândola e Palmela. Por uma questão de logística, apenas foi possível proceder ao rastreio de dirofilariose em gatos nas zonas de Setúbal, Moita e Palmela.

Estas regiões situam-se na margem norte da foz do Rio Sado, apresentando um clima temperado, com fortes influências mediterrâneas e atlânticas e uma variação por vezes acentuada de temperaturas. As temperaturas médias em Janeiro rondam os 11°C, chegando a atingir entre os 23°C e os 32°C em Agosto, e baixos níveis de precipitação durante o ano. Cerca de 9.500 hectares são constituídos por zonas húmidas marginais, convertidas para salinicultura, piscicultura e orizicultura e por pequenos cursos de água doce (Setúbal Península digital;2010).

2.2. Caracterização da população - alvo

2.2.1. Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo os gatos com mais de seis meses de idade, independentemente da sua raça, sexo, habitat e plano de desparasitação. Alguns destes animais apresentaram-se à consulta nas referidas clínicas e/ou hospital, independentemente do estímulo iatrotópico, enquanto outros pertenciam ao gatil da “Associação dos amigos dos animais abandonados da moita”.

2.2.2. Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo gatos com idade inferior a seis meses.

2.2.3. Realização e análise dos inquéritos

De modo a caracterizar a população sujeita à testagem, foi elaborado um inquérito (anexo 5) a preencher pelos proprietários dos animais, permitindo assim a obtenção de informação relativa às características do animal (idade, raça, sexo), área de proveniência, habitat e contacto com outros animais ou acesso ao exterior, profilaxia realizada para ectoparasitas e para doenças transmitidas por mosquitos.

No final do estudo, todas as respostas aos inquéritos foram analisadas pelo software do Google docs. O próprio programa analisa os dados e automaticamente calcula as frequências absolutas (número de ocorrências). Para uma melhor percepção e comparação dos resultados, a maioria destes foram convertidos em percentagem (frequência relativa) e exibidos sob a forma gráfica (gráfico de barras, circular,...).

Houve assim a aplicação de uma estatística descritiva com o objectivo de caracterizar a amostra incluída no “Projecto Sado”.

2.3. Realização do projecto

Para dar início ao estudo foi preparado um dossier (anexo 1) com todo o material necessário, nomeadamente panfletos informativos sobre a dirofilariose felina (anexo 3), inquéritos a serem preenchidos pelos proprietários dos animais testados (anexo 5), termos de reponsabilidade e autorização a serem assinados pelos proprietários (anexo 4) e folhas de resultados dos testes (anexo 6). Este dossier, assim como os testes SNAP® Feline Triple® foram entregues nas clínicas e hospital participantes. Nestes, os médicos veterinários procederam à colheita de amostras de sangue (cerca de 2,5 mL) a partir das quais se procedeu à realização do teste e se obteve soro para posterior detecção de anticorpos anti - *D. immitis*.

Face à necessidade de diversificar e tornar a amostra da população em estudo o mais representativa possível, foram testados pela autora, juntamente com o apoio da sua co-orientadora, Dra. Ana Mafalda Lourenço Martins, trinta animais alojados nos gatis da “Associação dos amigos dos animais abandonados da Moita”. Todos estes animais foram sedados de modo a diminuir o desconforto e stress dos procedimentos realizados. O

protocolo de sedacção utilizado foi o seguinte: 0,15 mg de medetomidina (Domitor ®) com 15 mg de Quetamina IM para animais entre os 3 e os 4 kg, e 0,15 mg de domitor com 20 mg de quetamina IM para animais com mais de 4 kg. A colheita de sangue foi executada seguindo os procedimentos habituais: tosquia da zona ventral do pescoço, desinfecção da pele e punção da veia jugular. Foram colhidas amostras de sangue as quais foram processadas de modo igual às colhidas nas clínicas. No final, para a reversão da sedacção induzida pela medetomidina foi administrado Antisedan ® via SC.

2.4. Pesquisa de antígenos de *D. immitis* (SNAP® Feline Triple® Test) (anexo 2)

Para proceder à pesquisa de antígenos de *D.immitis* foram seguidas as instruções do fabricante do teste, que são indicadas a seguir:

1. Colocar a placa de teste e a solução tampão à temperatura ambiente (15-30°C) durante 30 minutos;
2. Verter 3 gotas de sangue num tubo fornecido com o teste;
3. Adicionar 4 gotas da solução tampão, mantendo o tubo sempre na posição vertical;
4. Fechar cuidadosamente o tubo e agitar lentamente, invertendo-o 3 a 5 vezes;
5. Colocar a placa de teste sobre uma superfície plana e horizontal. Verter todo o conteúdo do tubo no pocilho da amostra, tendo o cuidado de não derramar.
6. A amostra fluirá até à “janela de resultados”, alcançando o “círculo de activação” em aproximadamente 30-60 segundos;
7. Assim que aparecer cor no “circulo de activação”, pressionar o activador com firmeza;
8. Analisar os resultados passados 10 minutos.

O teste SNAP® Feline Triple® apresenta uma elevada sensibilidade (89,3%) e especificidade (99,5%) (Idexx, 2008).

2.4.1. Interpretação dos resultados do teste

O resultado do teste só pode ser considerado válido se aparecer cor no local de controlo positivo. Caso o animal não possua nenhuma das três doenças detectadas pelo teste SNAP® Feline Triple®, apenas se produz cor no local de controlo positivo. Qualquer

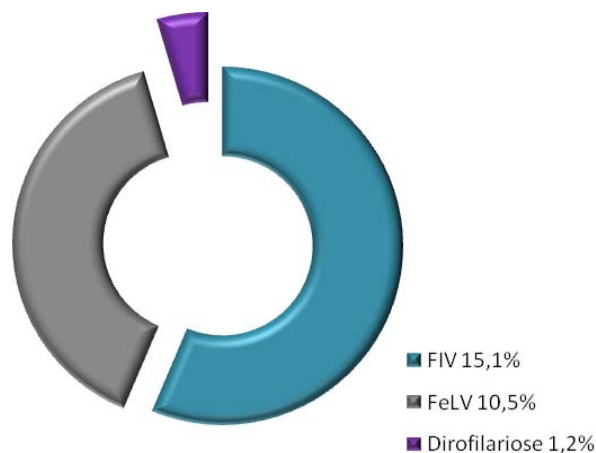
aparecimento de cor nos locais da amostra indica a presença de anticorpo para FIV, antígeno para FeLV ou dirofilaria na amostra (ver imagens elucidativas no anexo 2).

3. Resultados

3.1. Prevalências dos agentes etiológicos

Na totalidade da população em estudo (n= 86) foi verificada positividade em 15,1% (13/86) animais para anticorpos contra o vírus da imunodeficiência felina (FIV), 10,5% (9/86) para antígeno do vírus da leucemia felina (FeLV) e 1,2% (1/86) para antígeno de *D.immitis*. Estes valores referem-se exclusivamente aos resultados obtidos com o teste SNAP® Feline Triple® (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Prevalência (frequência relativa) dos agentes etiológicos na amostra em estudo



3.2. Caracterização da amostra em estudo

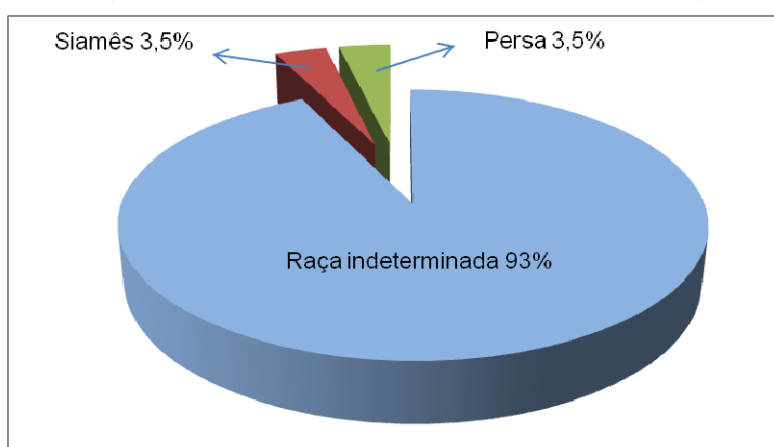
A amostra em estudo foi caracterizada tendo como base o inquérito já referido (anexo 5) preenchido pelos proprietários, que se incidiu sobre a idade, raça e sexo dos animais, assim como a sua área de proveniência, o habitat (animal sempre foi doméstico e nunca teve acesso ao exterior; doméstico mas tem ou já teve acesso ao exterior; sempre foi exclusivamente de exterior ou animal errante), o contacto com outros animais e, caso tenha, se estes apresentam alguma das três patologias detectadas pelo teste SNAP® Feline Triple® (FIV, FeLV e Dirofilariose). O conhecimento do uso de anti-parasitários e a sua

frequência de administração também foi de extrema importância para a caracterização da amostra.

3.2.1. Raça dos gatos da amostra

A maioria (93%) (80/86) dos gatos incluídos no estudo é de raça indeterminada (Europeu comum), existindo apenas 3,5% (3/86) gatos Persa e outros tantos de raça Siamesa (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Caracterização da amostra em estudo de acordo com a raça (frequência relativa)



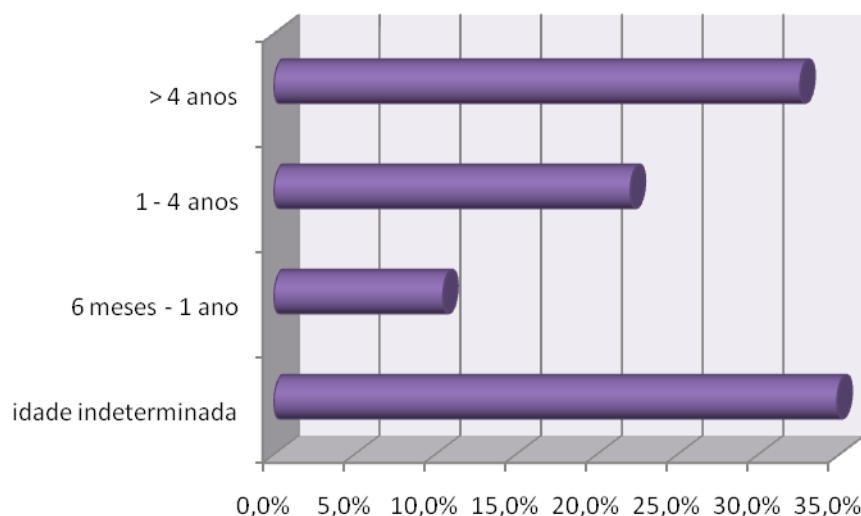
3.2.2. Idade dos gatos da amostra

Como critério de inclusão no estudo, todos os animais deviam de ter mais de 6 meses de idade.

A idade dos gatos deste estudo foi alocada em intervalos de modo a facilitar a inclusão daqueles cuja idade é desconhecida, tais como os animais errantes, e tornar os grupos de análise mais representativos, essencial para uma correcta análise da amostra da população em estudo.

Nos animais pertencentes à “Associação dos amigos dos animais abandonados da Moita” não foi possível apurar a idade de uma forma precisa devido ao facto de se tratarem de animais errantes. No entanto, todos eles possuíam características de adultos (mais de um ano de idade). Assim, 30 animais (34,9%) possuíam idade indeterminada, 10,5% (9/86) dos animais possuíam idade inferior a um ano, enquanto 22,1% (19/86) apresentavam uma idade compreendida entre um ano de idade e os quatro anos, tendo a maioria (32,6%) (28/86) uma idade superior aos quatro anos, tal como representado no gráfico 4.

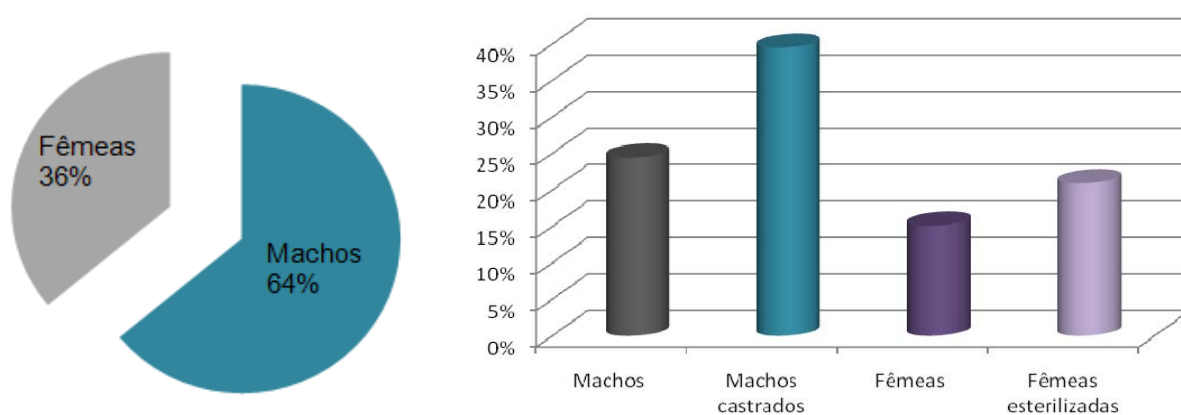
Gráfico 4 - Caracterização da amostra em estudo de acordo com a idade (frequência relativa)



3.2.3. Sexo dos gatos da amostra

Quanto ao sexo dos animais, 64% (55/86) dos indivíduos eram do sexo masculino, sendo 24,4% da totalidade da amostra machos inteiros (21/86) e 39,5% (34/86) orquiectomizados. Das 31 fêmeas (36%), 13 da amostra total (15,1%) eram inteiras sendo as restantes 18 gatas (20,9%) ovariectomizadas (Gráfico 5).

Gráficos 5 - Caracterização da amostra em estudo de acordo com o sexo (frequência relativa)



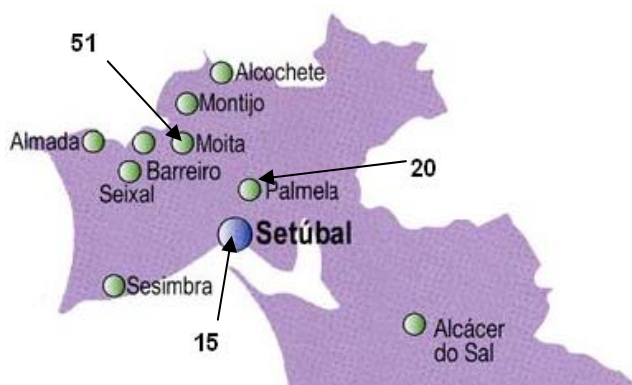
3.2.4. Área de proveniência dos gatos da amostra

A área de proveniência dos animais incluídos no estudo ficou desde início condicionada pelo facto de se terem escolhido clínicas em três zonas do concelho de Setúbal, não interferindo contudo com a representatividade da amostra.

Tal como está demonstrado no mapa, a maioria dos animais eram provenientes da região da Moita (59,3%) (51/86), sendo 23,3% (20/86) da zona de Palmela e os restantes 17,4% (15/86) dos animais da cidade de Setúbal.

É de ter em conta que apesar de todos os animais viverem, à data do estudo, na área geográfica supracitada, é impossível saber a proveniência exacta de alguns dos gatos, principalmente os errantes.

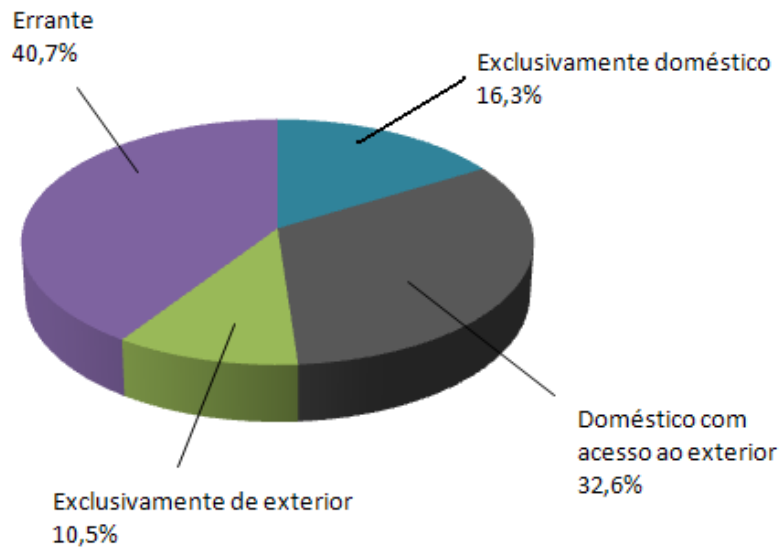
Figura 8 - Mapa com o número de animais da amostra distribuído pelas áreas de proveniência (adaptado de [OHwww.mapas-portugal.com/Mapa_Distrito_Setúbal_Portugal.ht](http://www.mapas-portugal.com/Mapa_Distrito_Setúbal_Portugal.ht))



3.2.5. Habitat dos gatos da amostra

Relativamente ao habitat dos animais (Gráfico 6), a maioria (40,7%) (34/86) eram animais errantes devido ao facto de trinta dos gatos incluídos no estudo terem origem numa associação de animais abandonados. Apenas 14 (16,3%) dos animais foram sempre exclusivamente domésticos, nunca tendo acesso ao exterior, 28 (32,6%) são considerados domésticos mas têm ou já tiveram acesso ao exterior e 9 (10,5%) dos animais testados sempre foram exclusivamente de exterior (por exemplo quintal) (gráfico 6).

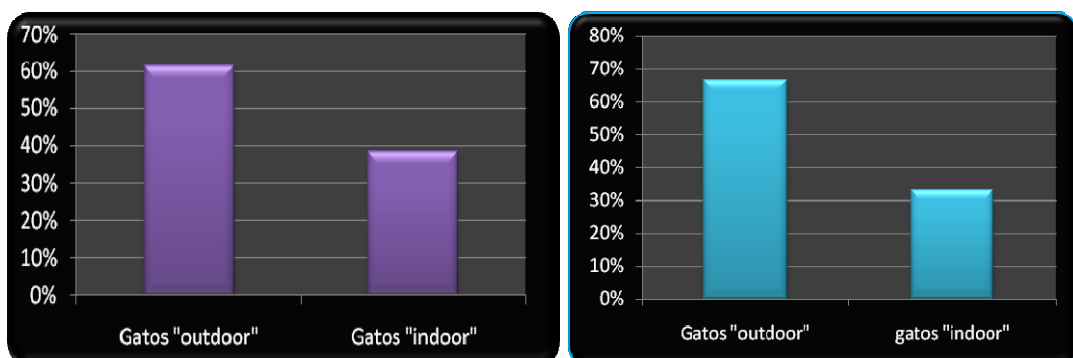
Gráfico 6 - Caracterização da amostra em estudo de acordo com o seu habitat (frequência relativa)



Pelo facto do habitat do animal ser um dos factores de risco para as doenças testadas neste trabalho, é importante perceber a relação da prevalência de FIV e FeLV com o tipo de habitat do animal. Assim, dos 13 gatos com FIV, 2 eram errantes, 6 sempre foram exclusivamente de exterior (exp. quintal) e 5 são domésticos mas têm ou já tiveram acesso ao exterior. No que diz respeito aos 9 gatos com FeLV, 4 eram errantes, 2 sempre foram exclusivamente de exterior e 3 sempre foram exclusivamente de interior. É de salientar que os três animais portadores de FeLV e com um habitat exclusivamente “indoor”, contactam com mais animais em casa, também portadores de FeLV.

Resumidamente, podemos concluir que 8 dos 13 gatos com FIV (61,5%) são “gatos outdoor”, e os restantes 5 (38,5%) são considerados “indoor”, mesmo já tendo tido alguma vez nas suas vidas, acesso ao exterior. Dos 9 gatos com FeLV, 6 são considerados “outdoor” (66,7%) e 3 exclusivamente “indoor” (33,3%) (gráfico 7).

Gráfico 7 – Relação entre a prevalência de FIV (gráfico à esquerda) e FeLV (gráfico à direita) e o habitat dos animais (frequência relativa)



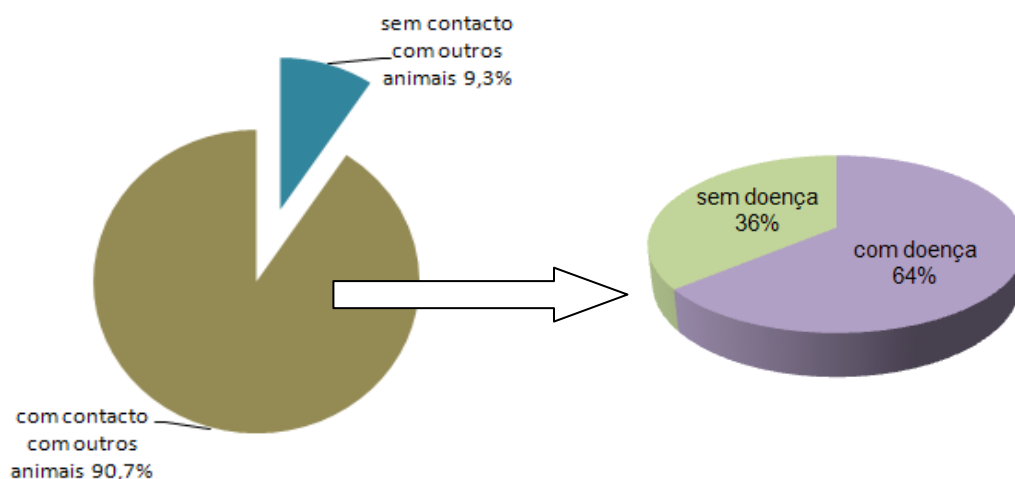
3.2.6. Contacto com outros animais e doença por FIV, FeLV ou Dirofilariose

No que diz respeito ao facto de os gatos incluídos no estudo terem contacto com outros animais, pode-se verificar que apenas oito (9,3%) dos proprietários não possuem mais nenhum animal em casa, sem ser o animal testado, possuindo os restantes animais do estudo (90,7%) (78/86) contacto com outros gatos e/ou cães.

Dos animais que coabitam com os gatos incluídos no projecto, cerca de 64% (50/78) possuem pelo menos uma das doenças detectadas pelo teste utilizado (SNAP® Feline Triple®), ou seja, FIV, FeLV ou dirofilariose.

Apenas seis (7,7%) dos animais que estão em contacto com os gatos testados possuem dirofilariose diagnosticada, sendo todos cães.

Gráfico 8 - Caracterização da amostra de acordo com o contacto com outros animais e presença ou ausência de alguma das doenças detectadas pelo teste (frequência relativa)



Legenda: Entende-se por animais “com doença” todos os gatos e/ ou cães que estão em contacto com os gatos incluídos no rastreio, que possuem pelo menos uma das doenças detectadas pelo teste utilizado (FIV, FeLV ou Dirofilariose).

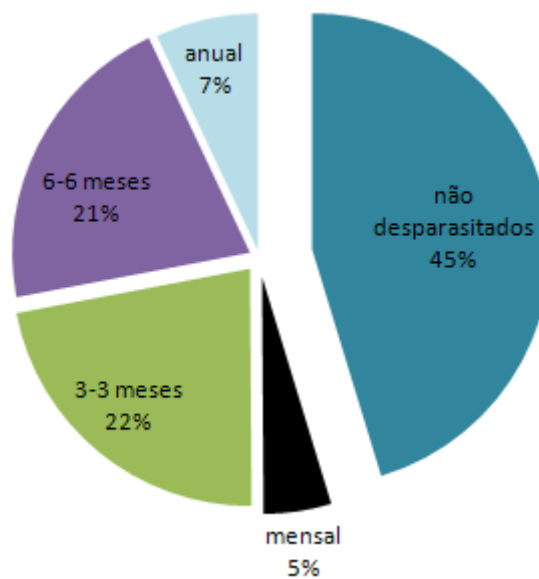
3.2.7. Desparasitação externa

Em relação à profilaxia anti-parasitária, apenas nove proprietários inquiridos nas clínicas responderam que não era habitual procederem à desparasitação dos seus gatos. Todos os trinta gatos pertencentes à associação dos animais abandonados também não eram sujeitos a desparasitação regular, o que eleva o nº de animais não desparasitados incluídos no estudo para 39 (45,3%). Já os restantes animais, ou seja, 54,7% do total (47/86), são alvo de desparasitação regular, sendo a frequência de administração mensal em quatro gatos, de

3 em 3 meses em dezanove, duas vezes ao ano em dezoito, e apenas anualmente em seis gatos (Gráfico 8).

Quanto às substâncias activas anti-parasitárias utilizadas, a seis dos animais administrou-se selamectina (Stronghold®) e a outros tantos moxidectina 1% (Advocate®). Estes dois medicamentos apresentam efeito na prevenção da dirofilariose (*Dirofilaria immitis*) em gatos, se usados mensalmente. Também com eficácia na prevenção da dirofilariose, a milbemicina oxima (Milbemax®) foi administrado a um gato. Nos restantes animais, também desparasitados regularmente, os anti-parasitários utilizados foram imidaclopride (Advantage®) e/ou fipronil (Frontline®), ambos com eficácia na prevenção para parasitas externos, como as pulgas ou as carraças, mas não na prevenção da dirofilariose.

Gráfico 9 - Caracterização da amostra em estudo de acordo com a desparasitação externa e sua frequência de administração (frequência relativa)



3.3 Caracterização do animal com resultado positivo à dirofilariose no teste SNAP® Feline Triple®

O animal, de nome “Camões”, foi aquele cujo teste SNAP® Feline Triple® apresentou resultado positivo para o antígeno do parasita *D.immitis* e Ac anti-virus da imunodeficiência felina (FIV).

Figura 9 - Teste SNAP® Feline Triple® do “Camões”, com resultado positivo para Antígeno de *D.immitis* e Anticorpo anti-FIV (fotografia original)



Trata-se de um animal de raça indeterminada, vulgo Europeu comum, com pelagem curta e lisa, de coloração negra e com um peso aproximado de 3 a 4 kg. O “Camões” tem aproximadamente 7 a 8 anos de idade e é um macho não orquiectomizado, tendo já reproduzido. Tem área de residência na Moita, mais concretamente a freguesia de Alhos Vedros e sempre foi um animal de exterior (quintal de uma casa privada). Apenas quando se encontra a fazer algum tipo de medicação, o que acontece raramente, tem acesso ao interior da casa dos donos. O “Camões” tem contacto com mais gatos e com um cão, sem dirofilariose diagnosticada nem aparente sintomatologia. Em termos de desparasitação externa, é-lhe administrado anualmente selamectina (Stronghold®).

Quanto ao exame físico, o “Camões” apresentou-se com estomatite severa, possivelmente relacionada com o FIV, assim como um mau estado geral do pêlo, com evidência de algumas zonas de alopecia e cicatrizes distribuídas por todo o corpo. Também apresentou um ligeiro estado de desidratação e a ausência total do globo ocular direito, de causa desconhecida. O restante do exame físico estava normal, não apresentando sintomatologia conhecida compatível com dirofilariose felina, nem com qualquer patologia respiratória.

Figura 10 - Fotografias do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a *Dirofilaria immitis* (fotografias originais)



3.3.1. Exames complementares

A este animal foram realizados adicionalmente outros exames complementares, no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa. O “Camões” foi sujeito a colheita de sangue para hemograma, provas bioquímicas e para a detecção de microfilárias. Foram também realizados radiografia torácica, ecocardiografia, electrocardiograma e exame oftalmológico.

Para alguns dos procedimentos, como por exemplo o posicionamento na radiografia e para a ecocardiografia foi necessária a tranquilização do “Camões”. Esta tranquilização foi realizada com butorfanol (0,1 mg/kg) e midazolan (0,1 mg/kg), por via intramuscular.

a) Alterações laboratoriais sanguíneas

Para realização de hemograma e provas bioquímicas sanguíneas, o sangue foi enviado para o “Laboratório de análises clínicas Professor M. Braço Forte/ FMV-UTL”.

Hemograma

Na Tabela 5 apresentam-se os resultados relativamente ao hemograma realizado ao animal (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a *Dirofilaria immitis*.

Verifica-se a existência de uma ligeira anemia (diminuição de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito) e a presença de anisocitose eritrocitária e policromasia (alterações da morfologia hematológica).

Quanto ao leucograma (tabela 6), verifica-se um aumento dos neutrófilos segmentados (em termos de percentagem) e uma diminuição do número de linfócitos.

Tabela 5 - Resultados do hemograma do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a *Dirofilaria immitis*

	Valor	Valor de referência	Unidades
Leucócitos	12,8	5,5-19,5	X10 ³ /μl
Eritrócitos	4,52	5,0-10,0	X10 ⁶ /μl
Plaquetas	463	300-700	X10 ³ /μl
Hemoglobina	6,52	8-15	g/dl
Hematócrito	20,4	24-45	%
VCM	45,1	39-55	fl
HCM	14,4	12,5-17,5	pg
CHCM	32	30-36	g/dl

Observações: anisocitose e policromasia 1+.

Tabela 6 - Resultados do leucograma do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a *Dirofilaria immitis*

	Valor (%)	Valor de referência (%)	Valor absoluto	Valor absoluto de referência (µL)
Neutrófilos não segmentados	0	0-3	0	0-300
Neutrófilos segmentados	85	35-75	10880	2500-12500
Linfócitos	10	20-55	1280	1500-7000
Monócitos	1	1-4	128	0-850
Eosinófilos	4	2-12	512	0-1500
Basófilos	0	raros	0	raros

Bioquímicas sanguíneas

Quanto aos resultados das provas bioquímicas sanguíneas, apenas a ureia se encontra ligeiramente acima dos valores considerados normais, estando os restantes parâmetros dentro dos valores de referência (tabela 7).

Tabela 7 - Resultados das bioquímicas sanguíneas do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a *Dirofilaria immitis*

	Valor	Valor de referência	Unidades
Albumina	3,3	2,0-4,0	g/dl
ALT (GTP)	41	23-109	U/L 37°C
Creatinina	1,55	0,7-2,2	mg/dl
Fosfatase alcalina	88	38-165	U/L 37°C
Proteínas Totais	6,8	5,5-7,7	g/dl
Ureia	117	0-82	mg/dl

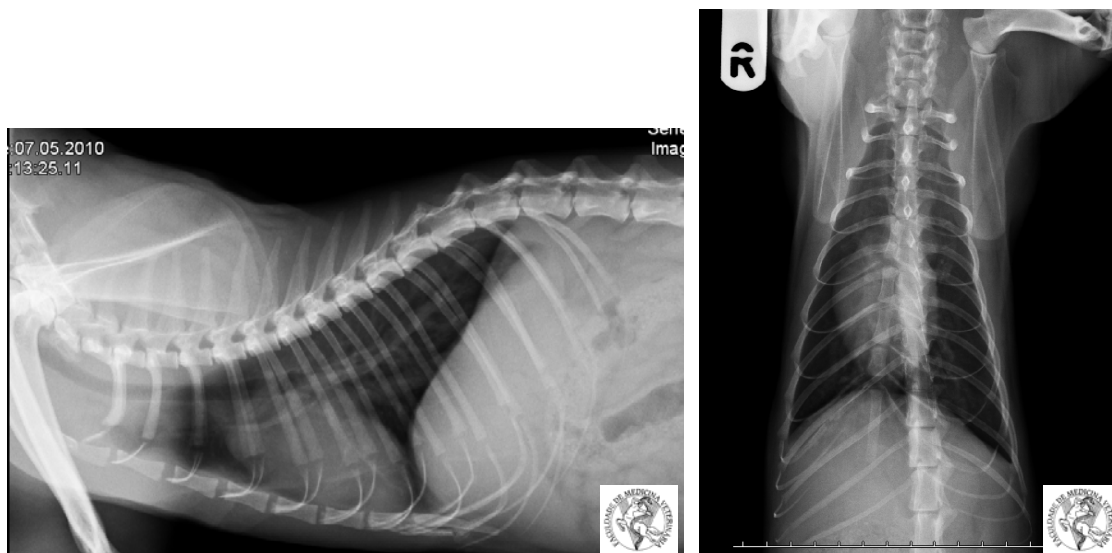
b) Testes para a detecção de microfilárias

Para pesquisa de microfilárias através da técnica da gota a fresco e técnica de Knott, e de hemoparasitas, foi enviado sangue para o Laboratório de Clínica das Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária. O resultado deu negativo para a presença de microfilárias na amostra observada, mas positivo para a presença de *Mycoplasma haemocanis* (*Haemobartonella canis*).

c) Radiografia torácica

No raio X realizado ao “Camões” é possível observar, embora de forma muito discreta, um ligeiro aumento da aurícula e ventrículo direitos. Na posição latero-lateral, a margem cranial é mais arredondada, a cintura caudal apresenta-se mais proeminente, e tem um maior contato com o esterno. Na posição ventro-dorsal demonstra uma margem cardíaca direita ligeiramente arredondada e mais próxima da parede torácica direita. Em termos de parênquima pulmonar, não há alterações visíveis ao raio –X.

Figura 11 – Radiografia torácica do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a *Dirofilaria immitis*. Projecção latero-lateral (à esquerda) e ventro-dorsal (à direita) (imagens originais)



d) Ecocardiografia

Com o objectivo de se observar as estruturas cardíacas, as funções de contractibilidade e a visualização dos parasitas (*Dirofilaria immitis*) nas câmaras cardíacas ou na artéria pulmonar, foi realizada uma ecocardiografia. Neste exame imagiológico foi possível verificar um espessamento da parede do ventrículo direito (hipertrofia direita) e uma ligeira dilatação ventricular direita, assim como uma dilatação atrial direita e do septo interatrial. Ao nível da válvula tricúspide observou-se algum influxo, através do Doppler.

A artéria pulmonar revelou uma ligeira tortuosidade e foi possível observar uma dirofilária no interior da artéria pulmonar direita, aparecendo como duas estruturas paralelas hiperecogénicas (figura.12).

Quanto ao lado esquerdo do coração, não se observou nenhuma anomalia em termos de câmaras cardíacas nem válvulas. A válvula mitral encontrava-se normal, sem regurgitação, tal como a aórtica, que apresentava uma velocidade de 1,42 m/s, valor considerado normal. A contractibilidade de todo o coração era normal e não existia sinais de trombos.

Figura.12.- Ecocardiografia do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a *Dirofilaria immitis*. As dirofilárias são visualizadas como duas linhas paralelas entre si (seta) (imagens originais)





e) Electrocardiograma

Quanto à interpretação do electrocardiograma realizado ao “Camões”, foi possível concluir que este apresenta um ritmo regular, sinusal normal, com uma frequência cardíaca de cerca de 140 batimentos por minuto (valor considerado normal).

Analisando o ECG, verifica-se que a onda P (correspondente à despolarização da musculatura atrial) está sempre acompanhada do complexo QRS, é positiva nas derivações II e aVF e invertida para aVR, ou seja, é normal. A sua duração, tal como a amplitude também são normais.

O intervalo PR (correspondente ao tempo necessário para o impulso eléctrico viajar do nódulo sinoatrial até ao ventrículo) possui uma amplitude normal.

O complexo QRS, que representa a despolarização da musculatura ventricular, encontra-se normal. As ondas Q e R possuem uma amplitude normal, no entanto, a onda S, que caracteriza a contracção ventricular direita está ligeiramente profunda, o que indica uma dilatação do ventrículo direito.

Salienta-se também a existência de um desvio do eixo eléctrico à direita (-30°), o que significa um espessamento do ventrículo direito.

Assim, através do electrocardiograma, pode-se concluir que o “Camões” apresenta alterações morfológicas (estruturais) a nível cardíaco, não apresentando no entanto qualquer alteração a nível eléctrico.

Figura.13.- Electrocardiograma do gato (“Camões”) que apresentou resultado positivo para a *Dirofilaria immitis*. Da esquerda para a direita e de cima para baixo: derivação I, II, III, aVR, aVL e aVF (imagens originais)



f) Exame oftalmológico

Ao animal foi também realizado um exame oftalmológico completo.

O teste de medição da produção da película lacrimal précorneal (tira de papel absorvente estéril, graduada, na pálpebra inferior, durante 60 segundos) resultou em valores inferiores aos normais (15 a 25 mm), demonstrando que o animal possuía uma diminuição da produção de lágrima.

Após a aplicação de um colírio anestésico tópico mediu-se a pressão intraocular (PIO) com o auxílio de um tonómetro. Esta também apresentou valores inferiores aos considerados normais.

No final, com a sala escurecida, procedeu-se à aplicação de um colírio midriático (tropicamida a 1%) e, recorrendo à oftalmoscopia, observou-se a câmara anterior do olho. Pretendeu-se com este exame verificar a existência (por visualização) de trajectos de migração das larvas de *D.immitis*, no entanto, este resultou negativo.

4. Discussão e conclusão

O estudo agora apresentado veio documentar, pela primeira vez, a existência da infecção felina por *D.immitis* na região do Sado, após o rastreio efectuado. Este projecto caracteriza-se também pelo facto de ter sido a primeira vez em Portugal em que se procedeu à utilização dos testes SNAP® Feline Triple®, os quais apresentam elevada sensibilidade (89,3%) e especificidade (99,5%) para a detecção de antígeno de *D.immitis* em gatos (Idexx, 2008).

A região estudada é uma zona com uma elevada prevalência de dirofilariose em cães. Para tal, contribui o facto de apresentar condições ambientais propícias à propagação da doença, nomeadamente, por se tratar de uma zona húmida com bastantes cursos de água doce, essencial para o desenvolvimento larvar aquático dos mosquitos. Adicionalmente apresenta um clima com temperaturas favoráveis à sustentação de uma população viável do mosquito vector e à maturação das microfilárias a L3 (Genchi *et al.*, 2005c).

Num estudo realizado em Portugal em 1991 por Pereira da Fonseca e seus colaboradores, recorrendo à técnica de Knott modificada, detectou-se uma prevalência de 16,7% de cães infectados com *D.immitis*, na Direcção Regional de Agricultura da Região do Ribatejo e Oeste, à qual pertence a região a norte do rio Sado, onde se situam as zonas incluídas neste projecto. De acordo com um estudo mais recente (2002), a prevalência desta parasitose em cães pode chegar aos 51,2% nas áreas do estuário de Sado, aos 11,2% na Arrábida e aos 9% positivos nas áreas urbanas do concelho de Setúbal (animalia.pt, 2007).

A prevalência de dirofilariose em gatos obtida no estudo agora apresentado foi de 1,2% (1/86), com um intervalo estimado entre $9,5 \times 10^{-3}$ e $1,45 \times 10^{-2}$, em que o grau de confiança é de 95%. Esta prevalência está de acordo com estudos epidemiológicos realizados anteriormente noutros países. Tendo em conta que a maioria dos gatos incluídos no estudo provinham de zonas urbanas do concelho de Setúbal, admite-se uma prevalência canina de cerca de 9%, logo corrobora os estudos que provam que a prevalência global da dirofilariose em felinos é de 5% a 20% da que ocorre em cães na mesma área geográfica (Genchi *et al.*, 2007a; Levy, 2007a; Atkins, 2007a; Nelson, 2008; Simón *et al.*, 2009).

Não nos parece provável que outros animais incluídos neste rastreio estejam infectados por *D.immitis*, uma vez que o teste utilizado (SNAP® Feline Triple®) possui uma sensibilidade bastante elevada.

A baixa prevalência de dirofilariose em gatos, obtida nos vários rastreios realizados, pode ser justificada pelo facto de esta espécie, apesar de susceptível, ser extremamente resistente à infecção, ocorrendo uma supressão possivelmente imuno-mediada, que acaba por debelar a infecção (Dillon, 1986, citado por Morchón *et al.*, 2004; AHS, 2010). Este facto pode ser a justificação para a inexistência de testes positivos para detecção de antigénio de *D.immitis* em animais incluídos no estudo e que possuíam um estilo de vida com vários factores de risco para a infecção. Como exemplo, os trinta gatos pertencentes ao gatil, para além de conviverem com cães com dirofilariose diagnosticada, estão expostos diariamente à possível picada do mosquito. Isto acontece porque as infra-estruturas onde se encontram alojados consistem num gatil com paredes de cimento, onde a frente está substituída por uma rede, com a malha de diâmetro de cerca de 5cm. De salientar que este gatil está situado numa zona de mato e com alguns cursos de água doce. Outro factor importante é a ausência de um protocolo de desparasitação externa e interna sistemática a estes animais.

Apesar de alguns autores afirmarem que quanto mais tempo um gato vive numa área de risco de dirofilariose e mais exposto está à inoculação de larvas infectantes, maior é a probabilidade de se infectar (Venco *et al.*, 2008b), no nosso estudo a maioria dos gatos possuía uma idade adulta.

Não afastamos contudo a possibilidade de existirem casos de infecção não detectados pelo teste utilizado, embora esta probabilidade seja remota face à já referida alta sensibilidade do teste. Contudo a possível existência destes casos pode dever-se ao facto de a maioria das infecções por dirofilária em gatos serem relativamente leves, existindo muitas vezes apenas um ou dois parasitas adultos. Também podem ocorrer infecções com parasitas imaturos e infecções uni-sexo, apenas com parasitas machos, não sendo assim detectados pelo referido teste, que apenas detecta antigénios provenientes dos úteros das fêmeas, e com mais de 5 meses de idade (Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007).

Neste estudo verificou-se que 54,7% (47/86) dos animais realizam um esquema terapêutico profiláctico que inclui alguns fármacos com acção eficaz na prevenção da *D.immitis* em gatos, como é o caso da selamectina (Stronghold®), moxidectina 1% (Advocate ®) e milbemicina oxima (Milbemax®). Apenas 4,7 % (4/86) da totalidade dos gatos incluídos no estudo são desparasitados mensalmente, portanto, teoricamente apenas estes estão protegidos de uma forma eficaz contra a doença. No entanto, pensamos que mesmo quando administrados com intervalos superiores (neste estudo, de 3 em 3 meses ou de 6 em 6 meses), os desparasitantes podem apresentar alguma acção preventiva, podendo interferir

com a maturação das larvas de dirofilárias. Este ponto poderá constituir também uma justificação para a prevalência obtida.

Este estudo insere-se num projecto mais alargado, com o objectivo de testar também todos os soros obtidos para a presença de anticorpos anti-*D.immitis*. Os testes de detecção de *Ac* são bastante sensíveis, pois larvas de qualquer sexo e em qualquer etapa do seu desenvolvimento podem provocar uma resposta imunitária do hospedeiro, detectável tão cedo como um a dois meses pós-infecção (Cohn, 2006; Venco & Genchi, 2007a; AHS, 2010). A produção de anticorpos circulantes ocorre mesmo em casos de infecções abortadas, período pré-patente ou apenas exposição ao parasita, e até quando os animais são sujeitos à administração de fármacos preventivos para a doença (Kramer & Genchi, 2002). Assim, é de extrema importância a realização destes testes na amostra uma vez que indica exposição ao parasita, oferecendo informação sobre a distribuição e o risco de infecção com o parasita numa população de gatos. Será interessante no futuro, após a obtenção dos resultados de pesquisa de anticorpos anti-*D.immitis*, fazer uma análise dos animais que actualmente se encontram infectados e aqueles que presumivelmente já estiveram infectados mas que conseguiram debelar a infecção.

O critério de inclusão para o estudo foi apenas a imposição de a idade ser superior a 6 meses, pois os testes de diagnóstico utilizados para detecção de antigénio detectam infecções com um mínimo de 5 meses.

Apesar de a avaliação das prevalências do vírus da imunodeficiência felina e do vírus da leucemia felina não estarem incluídas como objecto deste estudo, estas foram alvo de atenção uma vez que são doenças também detectadas pelo teste SNAP® Feline Triple®. Observou-se que as prevalências de FIV (15,1%) (13/86) e FeLV (10,5%) (9/86) são elevadas, quando comparadas com outros estudos existentes em populações comparáveis. Lorentzen e Caola (2008) detectaram uma prevalência 1.9% para a FeLV e 1% para FIV, enquanto num estudo efectuado por Levy (2007c), a seroprevalência de antigénios de FeLV e anticorpos de FIV em gatos foi de 2,6% e 3,6%, respectivamente. Os valores obtidos neste estudo podem ser justificados com o facto de a maioria dos animais portadores destas viroses serem animais com acesso ao exterior, errantes e com contacto com outros animais, também infectados. Face aos valores de prevalência obtidos não nos parece assim haver qualquer associação entre a infecção pelo parasita *D.immitis* e co-infecção com vírus da imunodeficiência felina e da leucemia felina, em conformidade com Levy e seus colaboradores (2003).

Quanto ao gato diagnosticado com dirofilariose e vírus da imunodeficiência felina, de nome “Camões”, apresentava alguns factores de risco para as referidas doenças. Assim há a considerar a sua idade (gato adulto com cerca de 7-8 anos), macho não orquiectomizado (as lutas pelas fêmeas é um comportamento de risco para a transmissão da virose) e com

um habitat exclusivamente de exterior. Para além disso o animal tem sido sujeito a um protocolo de desparasitação ineficaz para a prevenção da dirofilariose, uma vez que é administrado selamectina com uma frequência apenas anual.

O “Camões” é um gato de raça indeterminada e pelagem curta. De acordo com Levy (2007b) tanto gatos de pêlo longo como curto apresentam diagnóstico de dirofilariose, não havendo sensibilidade de raça evidente.

Levy (2003) e Atkins e seus colaboradores (2005a) associaram os gatos machos a um maior risco de infecção por *D.immitis* e no caso do “Camões” trata-se efectivamente de um gato do sexo masculino.

Nesta espécie existe uma elevada mortalidade das L5 nos meses seguintes à infecção (Dillon, 2007). A pequena percentagem que se torna adulto vive apenas 2 a 4 anos no animal (Nelson, 2008). Assim, podemos inferir que o “Camões” se infectou há menos de quatro anos e há mais de 5 meses, pois possui pelo menos uma dirofilária adulta, detectada pelo teste SNAP® Feline Triple®, que, como já referido, é altamente sensível e específico (89,3% e 99,5%, respectivamente) (Idexx, 2008).

Quanto à sintomatologia, o “Camões” aparentemente não apresentava qualquer sinal clínico compatível com dirofilariose felina, tanto a nível respiratório, como digestivo. Está descrito que cerca de 61,8% dos gatos infectados com o parasita são assintomáticos, sendo os seus exames físicos perfeitamente normais (AHS, 2010). Porém, trata-se de um animal autónomo, com habitat de exterior e que pouco convive com os donos, existindo portanto a possibilidade de já ter havido manifestação sintomatológica sem nunca ninguém se tenha apercebido. Esta hipótese é reforçada pelo facto de os sinais clínicos na dirofilariose felina serem muitas vezes transitórios ou inespecíficos (Nelson *et al.*, 2007).

Neste animal também o resultado da pesquisa de microfilárias pelo exame de gota a fresco e de Knott foi negativo. Esta situação pode ser explicada pelo facto de as microfilárias circulantes serem encontradas em menos de 20% dos gatos infectados (Levy, 2007b) pois a microfilarémia normalmente é baixa e transitória, com apenas 1 a 2 meses de duração (Kramer & Genchi, 2002). Torna-se importante também realçar que a hora a que foi feita a colheita sanguínea ao “Camões”, para a realização do teste de detecção de microfilárias não foi a mais indicada, tendo sido feita perto da hora de almoço. Devido às oscilações diárias verificadas na libertação das microfilárias para o sangue venoso periférico dos hospedeiros vertebrados, seria aconselhável proceder à colheita de sangue a partir das 21 horas (Nogami *et al.*, 2000; Hayasaki *et al.*, 2003). Assim, há que ter em consideração a existência de falsos negativos, face às flutuações diárias no número de microfilárias, às infecções com parasitas do mesmo sexo ou, em situações de destruição imunológica das microfilárias por parte dos hospedeiros. Neste caso específico, o resultado negativo para a existência de microfilárias também pode ser justificado, embora se nos apresente pouco provável, pelo

facto de o Camões estar a receber quimioprofiláticos, mesmo que anualmente, e esta prevenção incompleta, de alguma forma, tenha eficácia para as microfilárias.

No sangue do “Camões” foi detectado *Haemobartonella canis*, previamente reconhecida como *Rickettsia* e actualmente como *Mycoplasma haemocanis*. Trata-se de um parasita associado às hemácias (corpos cocóides e bastonetes situados à superfície dos glóbulos vermelhos) dos pequenos carnívoros, sendo transmitido através de ixodídeos, pulgas e piolhos. A maioria dos animais é portador da infecção numa forma latente, não apresentando sintomatologia. Assim é importante investigar nestes animais sempre uma infecção subjacente, como a presença de vírus imunossupressores (Couto & Nelson, 2006).

No que ao hemograma diz respeito, o “Camões” apresentava um número de eosinófilos normal. Levy (2007b) descreve que a eosinofilia suporta o diagnóstico de dirofilariose, no entanto, a maioria dos gatos infectados com o parasita *D.immitis* apresentam contagens de eosinófilos normais (uma vez que estas células normalmente estão presentes na circulação de forma inconsistente, ocorrendo geralmente 4 a 7 meses pós-infecção, e posteriormente de forma intermitente (Miller, 1998; AHS, 2010).

Em termos de alterações de hemograma, o “Camões” apresentava uma ligeira anemia, comum em aproximadamente um terço dos casos de dirofilariose. Esta anemia pode também ser justificada pelo agente infeccioso da imunodeficiência felina, que induz a destruição das células progenitoras, levando a uma anemia aplásica. Também se verificou, através da observação do esfregaço sanguíneo, uma anisocitose eritrocitária e policromasia, que poderá ser justificada pela infecção com o hemoparasita *Mycoplasma haemocanis*.

Em termos de leucograma, observou-se uma ligeira neutrofilia (em percentagem) associado provavelmente ao stress, excitação e medo do animal; e uma linfopenia que se pode atribuir à infecção pelo vírus da imunodeficiência felina.

Quanto às provas bioquímicas sanguíneas, a única alteração verificada foi um ligeiro aumento da ureia que poderá ser justificado por uma ligeira desidratação do animal (urémia pré-renal).

No raio-X tórax do “Camões” é possível observar um ligeiro aumento do lado direito do coração. Na opinião de Venco e seus colaboradores (2008a) a avaliação da silhueta cardíaca não é uma ferramenta clínica fiável para diagnóstico da infecção por dirofilariose felina, apesar de se observar uma tendência para esta medida aumentar de tamanho quando o animal se encontra infectado. Segundo Miller (1998) os achados radiográficos mais característicos de dirofilariose em felinos são a dilatação e a tortuosidade da artéria pulmonar e dos seus ramos caudais. Para Venco e os seus colaboradores (2008a) o achado mais específico desta doença, nesta espécie, é a presença de alterações parenquimatosas pulmonares focais nas áreas periféricas dos lobos caudais. Nenhuma destas alterações se verificou na radiografia realizada ao “Camões”. Algumas alterações características das

radiografias torácicas de gatos infectados com dirofilariose tendem a normalizar (Selcer *et al.*, 1996), podendo mesmo desaparecer completamente, não deixando nenhuma evidência de infecção residual. Este meio imagiológico é portanto uma importante ferramenta de diagnóstico nesta doença no entanto, devido à inconsistência das alterações radiográficas acima referidas, a ausência destas não exclui o diagnóstico de dirofilariose em gatos (Venco, 2007; Venco *et al.*, 2008a).

Encontra-se referido em vários espécimes bibliográficos que as dirofilárias adultas aparecem à ecografia como pequenos artefactos lineares, paralelos, fortemente hiperecogénicos (ESCCAP; 2009; Couto & Nelson, 2006; Nelson *et al.*, 2007) e localizadas normalmente na artéria pulmonar (Litster & Atwell, 2008b). Na ecocardiografia realizada ao “Camões”, foi possível a visualização dos parasitas na artéria pulmonar direita, achado que foi importante para o diagnóstico definitivo. A quantificação exacta da carga parasitária não foi possível devido ao facto de os parasitas poderem adquirir uma posição em espiral, sendo interceptados pelos ecos em vários locais, sobrestimando assim o número de parasitas realmente existente (Miller, 1998; Nelson *et al.*, 2007). À ecocardiografia foi também possível confirmar o aumento do lado direito do coração verificado ao raio-X, assim como uma ligeira tortuosidade da artéria pulmonar e espessamento da parede ventricular direita.

No caso do “Camões” o electrocardiograma apresentava alterações morfológicas (estruturais) a nível cardíaco, não apresentando no entanto qualquer alteração a nível eléctrico. A onda S estava ligeiramente profunda, o que indica uma dilatação do ventrículo direito, e apresentava ainda um desvio do eixo eléctrico à direita (-30°), o que significa um espessamento do ventrículo direito.

De acordo com as informações obtidas através do raio-X, ecocardiografia e ECG, pode concluir-se que o “Camões” apresenta uma ligeira insuficiência cardíaca direita.

Tendo como fundamento o facto de ocorrerem comumente migrações aberrantes das larvas do 4º estágio para os olhos nos gatos (ESCCAP, 2009), o “Camões” foi submetido a um exame oftalmológico. Este demonstrou que o animal possuía uma ligeira diminuição da produção de lágrima, assim como uma diminuição da pressão intraocular, no entanto, não foram visualizados trajectos da migração das larvas de *D.immitis* na câmara anterior do olho.

Uma vez que o “Camões” não apresenta, aparentemente, sintomatologia de infecção por *D.immitis*, pensamos que a melhor opção é esperar que ocorra uma cura espontânea, que é usual acontecer nos gatos (AHS, 2010).

Para o tratamento do “Camões”, uma das opções, embora não fundamental, é a administração por via oral de doses decrescentes de prednisona. Este regime empírico defendido por Levy, (2007c), Nelson (2007) e Venco (2007) tem como objectivo diminuir os infiltrados intersticiais sempre que exista evidência radiográfica de doença pulmonar, os

testes para a detecção de anticorpos e/ou detecção de antígenos apresentem resultados positivos ou os animais demonstrem sinais clínicos ligeiros ou intermitentes.

Para a monitorização da doença, o “Camões” deverá ser sujeito novamente à realização de testes de detecção de antígeno de *D.immitis* e radiografia de tórax num período de 6 a 12 meses. Uma vez que a situação clínica do “Camões” é estável, a nova avaliação para detecção de antígeno poderá ser feita apenas daqui a um ano. A seroconversão de um teste de detecção de antígeno positivo ao estado negativo prova que o período de risco da infecção já passou (Nelson *et al.*, 2007). Na nossa opinião o animal deve também ser sujeito a uma monitorização rigorosa, em termos de acompanhamento médico veterinário e realização de exames complementares, como por exemplo análises sanguíneas, visto tratar-se de um animal imunodeprimido. Os donos devem ser informados quanto à necessidade de estarem atentos e alerta para o aparecimento de sintomatologia compatível com dirofilariose.

Quanto ao prognóstico, existe sempre uma imprevisibilidade da evolução da doença, variando de uma forma individual no que diz respeito à capacidade de reagir e tolerar a infecção (Genchi *et al.*, 2008). No caso do “Camões”, a evolução da doença está também dependente do facto de este possuir uma doença concomitante que afecta o sistema imunitário, diminuindo os mecanismos de doença. Como se sabe, a dirofilariose em gatos possui essencialmente uma componente imunomediada. Estes factos podem ser a explicação para o facto de o “Camões” apresentar a doença activa, pois não tem capacidade de suprimir a infecção.

O tratamento adulticida não é recomendado devido à toxicidade dos fármacos e aos efeitos colaterais potencialmente fatais, causados em felinos.

O tratamento microfilaricida não é necessário neste caso uma vez que o animal aparentemente não apresentava microfilarémia. No entanto, devido às oscilações diárias observadas na libertação das microfilárias, recomenda-se re-avaliar o “Camões” para microfilarémia nas horas indicadas, para confirmar a sua ausência e decidir o tratamento.

À luz da crescente informação sobre a simbiose *Wolbachia-Dirofilaria immitis*, nomeadamente o facto de a bactéria ser uma potencial causa de inflamação pulmonar no curso da doença filarial, e a depleção desta ser acompanhada pela inibição do desenvolvimento larvar, esterilidade das fêmeas e alguns efeitos adulticidas (ESCCAP, 2009; Kramer 2007), é importante ponderar o tratamento anti-*Wolbachia* com tetraciclinas (doxiciclina).

Neste caso, a doxiciclina também é indicada para o tratamento do hemoparasita *Haemobartonella canis* (10 mg/kg pv, PO, sid, durante 21 dias). Juntamente com o antibiótico deve administrar-se prednisona (2-4 mg/kg pv, PO, sid), tendo como base a evidência de lesão imunitária dos eritrócitos que causa uma anemia hemolítica (Couto &

Nelson, 2006). Devido ao animal possuir uma doença que causa uma imunodeficiência (virus da imunodeficiência felina) e a anemia que apresenta não ser considerada grave, a corticoterapia não se justifica, sendo mesmo desaconselhada neste caso.

No caso do “Camões”, a remoção cirúrgica dos parasitas adultos de *D.immitis* não é aconselhável uma vez que o animal não apresenta sintomatologia decorrente da infecção, nem se encontra fortemente parasitado.

Como o tratamento adulticida é contra-indicado, a profilaxia é a opção viável. Estão disponíveis vários fármacos derivados das lactonas macrocíclicas, nomeadamente as avermectinas (Selamectina e ivermectina) e as milbemicinas (milbemicina oxima e moxidectina), com eficácia comprovada na prevenção da dirofilariose em gatos. No caso do “Camões”, o aconselhável seria manter a terapêutica com a selamectina (Stronghold®), que tem a vantagem de ser uma solução tópica, constituindo assim um meio seguro e eficaz, com stress mínimo para o animal e uma aderência máxima da parte dos proprietários à terapêutica (Beck, 2007). Para que o fármaco tenha uma eficácia de 100% este terá de ser administrado mensalmente. As formas de *D. immitis* que já se encontrem completamente desenvolvidas no início do tratamento não reduzem o seu número, mas a massa de parasitas é reduzida pelo menos em 20% (McCall *et al.*, 2008). É de salientar que os desparasitantes supracitados são seguros e eficazes na prevenção, mesmo quando administrados em gatos infectados experimentalmente com um elevado número de parasitas adultos, com microfilarémia ou sujeitos a um alto risco de transmissão (Venco *et al.*, 2008b).

A profilaxia consiste na opção mais viável para a protecção dos gatos nas zonas endémicas, tendo em conta o elevado risco de infecção e a imprevisibilidade da doença, podendo mesmo ser fatal, e uma vez que o tratamento adulticida apresenta riscos (Genchi *et al.*, 2007a; Ettinger & Feldman, 2010). Segundo as orientações da AHS, a terapêutica preventiva é recomendada para todos os gatos com mais de oito semanas de idade, que vivam em áreas onde a dirofilariose é considerada endémica em cães e a exposição aos vectores é possível (Nelson *et al.*, 2007).

Sabe-se que a transmissão de dirofilariose na Europa é marcadamente sazonal (Genchi *et al.*, 2005c). O aquecimento global verificado nos últimos anos tende a prolongar a época de risco da infecção, uma vez que oferece maior número de dias com temperaturas favoráveis à sobrevivência e aumento da população de vectores. É de extrema importância ter isto em consideração para a estipulação do calendário de administração do medicamento preventivo da dirofilariose, uma vez que este deve assegurar a protecção contra a infecção durante a toda a temporada de transmissão (Genchi *et al.*, 2009). Com base nestes factos, é actualmente aconselhada uma profilaxia anual, sem interrupções, principalmente em zonas endémicas (Atkins & Paul, 2006; Genchi *et al.*, 2007a). Se por questões económicas ou por

opção do dono, o protocolo de desparasitação escolhido consistir na administração dos fármacos apenas durante a época de maior risco, a profilaxia destes animais deve ser iniciada nos 30 dias após o início estimado da temporada de transmissão, e continuado até 30 dias após o prazo ter terminado. Na região onde estão inseridas as zonas incluídas no estudo, a época principal de transmissão inicia-se a meados de Junho durando até final de Outubro (Genchi *et al.*, 2005c).

A prevenção deve ser aplicada a todos os gatos, mesmo os que possuem estilos de vida mais protegidos pois, de acordo com vários estudos realizados, gatos que vivem exclusivamente dentro de casa também podem estar em risco (quase um terço) uma vez que é muito difícil existir uma barreira 100% protectora, que impeça a entrada de mosquitos para o interior de uma habitação (Ettinger, 2010).

É importante que antes de se iniciar qualquer tipo de prevenção, os animais sejam testados para a presença de antígenos circulantes, e idealmente, que estes sejam repetidos no início de todas as temporadas sazonais de transmissão (AHS, 2010; Genchi *et al.*, 2007b).

A maioria dos médicos veterinários nunca diagnosticou um caso de dirofilariose num gato, e embora os profissionais possam acreditar que a doença existe em áreas endémicas, eles tendem a desconsiderá-la como um problema no nosso país (Nelson, 2008). Para isso contribuem para além da real incidência, global baixa, nesta espécie, as limitações do diagnóstico ainda existentes, nomeadamente a ausência em Portugal de testes para detecção de antígeno *D.immitis* com elevada sensibilidade, como os utilizados neste projecto (SNAP® Feline Triple®). Também contribui o facto de os gatos exibirem sinais clínicos inespecíficos, muitas vezes transitórios ou até mesmo a ocorrência de morte sem confirmação da infecção (Litster & Atwell, 2008b; Venco *et al.*, 2008a) e ainda o facto de alterações laboratoriais serem transitórias ou ausentes, os achados eletrocardiográficos serem mínimos e os gatos normalmente serem amicrofilarémicos (Atkins, 2007a).

Como conclusão, o facto de ter ocorrido um caso positivo de dirofilariose no projecto, demonstra a existência do parasita *D.immitis* na população de gatos da região do Sado.

Assim é de nossa opinião que a dirofilariose felina deverá começar a ser incluída na lista de diagnósticos diferenciais em gatos que apresentem sinais clínicos compatíveis com a doença, naquela zona do país.

A clarificação da situação da prevalência da dirofilariose felina no nosso país é de extrema importância e interesse. Esta pode ser conseguida através da utilização de testes de detecção de anticorpo anti- *D.immitis*, sendo útil também na determinação da população em risco. É aconselhado também o aumento da utilização dos testes para pesquisa de antígenos e a consciencialização e sensibilização dos colegas veterinários e proprietários para esta patologia e sua prevenção pela terapêutica profiláctica, bem como a divulgação da

mesma, por exemplo com o auxílio de panfletos informativos da doença e/ ou reuniões técnico científicas e outras.

BIBLIOGRAFIA

- AHS (2010). Feline Heartworm Disease, American Heartworm Society Acedido em Mar. 13, 2010, disponível em: <http://www.heartwormsociety.org/pet-owner-resources/feline-heartworm.html>.
- Animalia.pt (2007). Dirofilariose – uma zoonose emergente [versão electrónica]. In *Revista semanal online*, 22 Novembro 2007. Acedido em Set. 3, 2010, disponível em http://animalia.pt/canal_detalhe.php?id=50
- Arther, R., Charles, S., Ciszewski, D., Davis, W. & Settje, T. (2005). Imidacloprid/moxidectin topical solution for the prevention of heartworm disease and the treatment and control of flea and intestinal nematodes of cats [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 133, Issues 2-3, 24 October 2005, pp. 219-225 Acedido em Jun. 30, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.001>
- Atkins, C., DeFrancesco, T., Coats, J., Sidley, J. & Keene, B. (2000). Heartworm infection in cats: 50 cases (1985–1997) [versão electrónica]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. volume 217, Issue 3,1 Aug. 2000, pp. 355–358. Acedido em Jul. 11, 2010, disponível em: <http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/javma.2000.217.355>
- Atkins, C., Moresco, A. & Litster, A. (2005a). Prevalence of naturally occurring *Dirofilaria immitis* infection among nondomestic cats housed in an area in which heartworms are endemic [resumo] [versão electrónica]. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227 (2005), pp. 139-143. Acedido em Abr. 17, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.2460/javma.2005.227.139>
- Atkins, C. (2005b). Why you should be concerned about heartworms in cats [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, Jan. 8-12, 2005. Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2005/SAE/351.pdf?LA=1>.
- Atkins, C. & Paul, M. (2006). Heartbreakers: Dodging the difficulties of *Dirofilaria immitis* [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference: Small Animal – Parasitology*, Orlando, Florida, Jan. 13-27, 2006. Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2006/SAE/358.asp?LA=1>
- Atkins, C. (2007a). Feline Dirofilariasis: The Cutting Edge [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference: Small Animal – Cardiology*, Orlando, Florida, 2007, Acedido em Jun. 9, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/SAE/053.asp?LA=1>
- Atkins, C. (2007b). Feline Heartworm Disease: State of the art (2007) [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Ithaca, NY, Jan. 13-27, 2007. Acedido em Jun. 9, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/SAE/049.asp?LA=1>
- Atkins, C. (2007c). Feline Heartworm Disease: What's New? [versão electrónica]. In *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association*, Sydney, Australia, 2007. Acedido em Jun. 9, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2007/pdf/atkins3001.pdf>

- Atkins, C., Arther, R., Ciszewski, D., Davis, W., Ensley, S., Guity, P., Chopade, H., Hoss, H. & Settje, T. (2008). Echocardiographic quantification of *Dirofilaria immitis* in experimentally infected cats [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 158, Issue 3, 10 December 2008, pp. 164-170. Acedido em Jun. 30, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.003>
- Atwell, R., Litster, A. (2002). Surgical extraction of transplanted adult *Dirofilaria immitis* in cats [versão electrónica]. *Veterinary research communications*, Volume 26, issue 4, 2002, pp. 301-308. Acedido em Jul. 19, 2010, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12184501>
- Bazzocchi, C, Cecilian, F., McCall, J., Ricci, I., Genchi, C. & Bandi, C. (2000). Antigenic role of the endosymbionts of larial nematodes: IgG response against the *Wolbachia* surface protein in cats infected with *Dirofilaria immitis* [versão electrónica]. *Proceedings Biological Science the Royal*, 22 Dec., 2000, Vol. 267, pp. 2511-2516. Acedido em Mai. 3, 2010, disponível em: <http://www.dx.doi.org/10.1098/rspb.2000.1313>
- Beck, W. (2007). Ectoparasites, Endoparasites, & Heartworm Control in Small Animals [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, Jan. 13-27, 2007. Acedido em Jun 9, 2010, disponível em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=wsava2002&PID=2591>.
- Berdoulay, P., Levy, J., Snyder, P., Pegelow, M., Hooks, J., Tavares, L., Gibson, N. & Salute, M. (2004). Comparison of Serological Tests for the Detection of Natural Heartworm Infection in Cats [versão electrónica]. *Journal of the American Animal Hospital Association* 40:376-384 (2004). Acedido em Mar. 22, 2010, disponível em: http://www.synbiotics.com/Products/CompanionAnimals/Feline/DiroCHEK_lab/960230-DiroCHEKFelineStudy.pdf
- Cancrini, G. & Gabrielli, S. (2007). Chapter 3: Vectors of *Dirofilaria* nematodes:biology, behaviour and host/parasite relationships. In Cringoli, G, *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections*. pp 49-58. Italy: Rolando Editore.
- Cohn, L. (2006). Serologic testing concepts [versão electrónica]. In *International Congress of the Italian Association of Companion Animal Veterinarians*, Rimini, Italy, May 19-21, 2006. Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: http://www.ivis.org/proceedings/scivac/2006/cohn6_en.pdf?LA=1.
- Couto, C. & Nelson, R. (Ed) (2006). *Medicina interna de pequenos animais (3th ed)*. Rio de Janeiro: Elsevier. pp: 165-178; 1197; 1224.
- Datz, C. (2003). Update on Canine and Feline Heartworm Tests. [versão electrónica]. *Compendium Article* 2 Vol. 25, No. 1 January 2003. pp. 30-42. Acedido em Jul. 10, 2010, disponível em: http://www.vettechjournal.com/Media/PublicationsArticle/PV_25_01_30.pdf
- Dillon, R. (2005). American heartworm society [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, Jan. 8-12, 2005. Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2005/SAE/352.pdf?LA=1>.

- Dillon, R. (2007). The Nature of Heartworm Disease in Cats: Different from the Dog [versão electrónica]. In North American Conference, Ithaca, NY, Jan 13, 2007. Acedido em Mar. 14, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/SAE/347.asp?LA=1>
- Dillon, A., Warner, A., Brawner, W., Hudson, J., Tillson, M. (2008). Activity of pulmonary intravascular macrophages in cats and dogs with and without adult *Dirofilaria immitis* [versão electrónica]. Veterinary Parasitology, Volume 158, issue 3, 10 Dec 2008, pp. 171-176. Acedido em Jun. 30, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.0094>
- Donahoe, J., Kneller, S., Lewis, R. (1976) Hematologic and radiographic changes in cats after inoculation with infective larvae of *Dirofilaria immitis*. [versão electrónica]. Journal of the American Veterinary Medical Association. volume 168, Issue 5,1 Mar. 1976, pp. 413-417. Acedido em Jul. 11, 2010, disponível em: <http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/javma.2000.217.355>
- Echeverri, A., Long, R., Check, W. & Burnett, C. (1999). Pulmonary Dirofilariasis [versão electrónica]. The Animals of Thoracic Surgery, Volume 67, Issue 1, 1999, pp. 201-202. Acedido em Jul. 10, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-4975\(98\)01060-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-4975(98)01060-1).
- Ettinger, S. & Feldman E. (2010). Chapter 254: Heartworm Disease- Feline heartworm disease. In S. J. Ettinger & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7th ed). Missouri: Elsevier Saunders
- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (2006). *Worm Control in Dogs and Cats. ESCCAP Guideline 1 – December 2006*. Worcestershire, United Kingdom: ESCCAP. Acedido em Dez. 27, 2009, disponível em: http://www.esccap.org/index.php/fuseaction/download/lrn_file/001-esccap-guidelines-ukfinal.pdf
- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (2009). *Control of Vector – Borne diseases in Dogs and Cats. ESCCAP Guideline 05 – September 2009*. Worcestershire, United Kingdom: ESCCAP. Acedido em Dez. 27, 2009, disponível em: http://www.esccap.org/index.php/fuseaction/download/lrn_file/esccap-gl5-vbd-dec09.pdf
- Fisher, M. (2008). Parasite diagnostics: the methods and what they will and will not tell you [versão electrónica]. In European Veterinary Conference Voorjaarsdagen, Amsterdam, Netherlands, April 24-26, 2008 Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/voorjaarsdagen/2008/parasitology/195bis.pdf>
- Genchi, C., Cody, R., Pengo, G., Büscher, G., Cavalleri, D., Bucci, V. & Junquera, P. (2004). Efficacy of a single milbemycin oxime administration in combination with praziquantel against experimentally induced heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in cats [versão electrónica]. Veterinary Parasitology, Volume 122, Issue 4, 6 August 2004, pp. 287-292. Acedido em Jun. 14, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.04.011>
- Genchi, C., Bazzocchi, C., Kramer, L., Genchi, M., Bandi, C. (2005a). *Dirofilaria/Wolbachia* symbiosis: a friend or a foe [versão electrónica]. In Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association, Mexico City, Mexico, 2005. Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2005/24.pdf>

- Genchi, C., Simón, F. & Kramer, L. (2005b) Dirofilariosis in Humans: Is it a Real Zoonotic Concern? [versão electrónica]. Proceedings of the 30th World Congress of World Small Animal Veterinary Association, May 11-14, 2005, Mexico City, Mexico, Acedido em Jul. 10, 2010, disponível em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2005&PID=10908&Print=1&O=Generic>
- Genchi, C., Rinaldi, L., Cascone, C., Mortarino, M. & Cringoli, G. (2005c). Is heartworm disease really spreading in Europe? [versão electrónica]. Veterinary Parasitology, Volume 133, 2005, pp. 137-148. Acedido em Jun. 30, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.009>
- Genchi, C., Guerrero, J., McCall, John W., Venco, L. (2007a). Chapter 12: Epidemiology and prevention of *Dirofilaria* infections in dogs and cats. In Cringoli, G, *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. pp 147-158. Italy: Rolando Editore.
- Genchi, C., Venco, L., Genchi, M. (2007b). Chapter 11: Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria* infections. In Cringoli, G, *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. pp 139-144. Italy: Rolando Editore.
- Genchi, C., Venco, L., Ferrari, N., Mortarino, M. & Genchi, M. (2008). Feline heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection: A statistical elaboration of the duration of the infection and life expectancy in asymptomatic cats [versão electrónica]. Veterinary Parasitology, Volume 158, Issue 3, 10 December 2008, pp. 177-182. Acedido em Jun. 19, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.005>
- Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M. & Cringoli, G. (2009). Climate and *Dirofilaria* infection in Europe [versão electrónica]. Veterinary Parasitology, Volume 163, 2009, pp. 286-92. Acedido em Jun. 30, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.03.026>
- Gomes, L., Serrão, M., Duarte, R., Bendas, A. & Labarthe, N. (2007). Attraction of mosquitoes to domestic cats in a heartworm enzootic region [versão electrónica]. Journal of Feline Medicine & Surgery, Volume 9, Issue 4, August 2007, pp. 309-312. Acedido em Mar. 14, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2007.01.009>
- Goodwin, J. (1998). The Serologic Diagnosis of Heartworm Infection in Dogs and Cats [versão electrónica]. Clinical Techniques in Small Animal Practice, Volume 13, N.º 2, May 1998, pp 83-87. Acedido em Jul. 10, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1096-2867\(98\)80011-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1096-2867(98)80011-X)
- Grandi, G., Zivicnjak, T., Beck, R. (2007). Chapter 4: Pathogenesis of *Dirofilaria* spp. infections. In Cringoli, G, *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. pp 61-66. Italy: Rolando Editore.
- Guerrero, J. (2005). Heartworm Pathophysiology In Dogs And Cats [versão electrónica]. In Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association, Mexico City, Mexico, 2005. Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2005/23.pdf>

- Hayasaki, M., Okajima, J., Song, K. & Shiramizu, K. (2003). Diurnal variation in microfilaremia in a cat experimentally infected with larvae of *Dirofilaria immitis* [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 111, Issues 2-3, 13 February 2003, pp. 267-271. Acedido em Jul. 11, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00356-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00356-4)
- Idexx (2008). IDEXX Laboratories launches SNAP® Feline Triple™ [versão electrónica]. Press releases. IDEXX Laboratories, Inc., Maine, December 11, 2008. Acedido em Jul. 10, 2010, disponível em: http://www.idexx.com/view/xhtml/en_us/corporate/news/press-releases/20081211pr.jsf
- Johnson, L. (2006). Diagnosis and Management of the Coughing Cat [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, Jan. 13-27, 2006. Acedido em Abr. 16, 2010, disponível em: <http://www.avis.org/proceedings/navc/2006/SAE/463.pdf?LA=1>
- Kalkstein, T., Kaiser, L. & Kaneene, J. (2000). Prevalence of heartworm infection in healthy cats in the lower peninsula of Michigan [versão electrónica]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, September 15, 2000, Vol. 217, No. 6, pp. 857-861. Acedido em Mai. 3, 2010, disponível em: <http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/javma.200.217.857>
- Klotchko, A. (2010). Dirofilariasis [versão electrónica]. *eMedicine Specialties*, 24 7 Jan. 2010. Acedido em Jul. 28, 2010, disponível em: <http://emedicine.medscape.com/article/236698-overview>
- Kozek, W. (2005). What is new in the *Wolbachia*/Dirofilaria interaction? [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology* 133 (2005) 127-132. Acedido em Jul. 17, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.02.005>
- Kozek, W. Gonzalez, J., Amigo, L. (2007) Free communications: *Wolbachia* of *Dirofilaria immitis*: an historical perspective and morphological characteristics. In Cringoli, G, *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. pp 209-210. Italy: Rolando Editore.
- Kramer, L. & Genchi, C. (2002). Feline heartworm infection: serological survey of asymptomatic cats living in northern Italy [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 104, 27 February 2002, pp. 43-50. Acedido em Mar. 14, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00602-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00602-1)
- Kramer, L. (2006a). How *Wolbachia* / *Dirofilaria immitis* interact? [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida. Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: <http://www.avis.org/proceedings/navc/2006/SAE/360.asp?LA=1>.
- Kramer, L. (2006b) The Role of *Wolbachia* in the Inflammatory and Immune Response in *D. Immitis* Infected Animals [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida. Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: <http://www.avis.org/proceedings/navc/2006/SAE/361.asp?LA=1>.
- Kramer, L. (2007). Chapter 5: Immunopathogenesis of filarial infections in dogs and cats: a role for *Wolbachia* endosymbiont?. In Cringoli, G, *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. pp 69-72. Italy: Rolando Editore.

- Krautmann, M., Novotny, M., Keulenaer, K., Godin, C., Evans, E., McCall, J., Wang, C., Rowan, T. & Jernigan, A. (2000). Safety of selamectin in cats [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 91, Issues 3-4, 23 Aug. 2000, pp. 393-403. Acedido em Abr. 17, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00307-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00307-1)
- Labarthe, N., Ferreira, A., Guerrero, J., Newcomb, K. & Paes-de-Almeida, E. (1997). Survey of *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) in random source cats in metropolitan Rio de Janeiro, Brazil, with descriptions of lesions [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 71, Issue 4, Agosto 1997, pp. 301-306. Acedido em Jun. 22, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00041-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00041-1)
- Labarthe, N., Serrão, M., Melo, Y., Oliveira, S. & Lourenço-de-Oliveira, R. (1998). Potential Vectors of *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) in Itacoatiara, Oceanic Region of Niterói Municipality, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz* [versão electrónica]. 1998, vol.93, n.4, pp. 425-432. ISSN 0074-0276. Acedido em Jun. 10, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761998000400001>
- Lai, C., Tung, K., Ooi, H. & Wang, J. (2000). Competence of *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* as vector of *Dirofilaria immitis* after blood meal with different microfilarial density [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 90, Issue 3, 27 June 2000, pp. 231-237. Acedido em Jun. 10, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00242-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00242-9)
- Lee-A, S., Lee, S-G, Choi, E., Hyun, C. (2008) Prevalence of the endosymbiont *Wolbachia* in heartworms (*Dirofilaria immitis*) [versão electrónica]. *The Veterinary Record*, Volume 163, 2008, pp. 484-486. Acedido em Jun. 22, 2010, disponível em: <http://veterinaryrecord.bvapublications.com/cgi/content/full/163/16/484>
- Levy, J., Snyder, P., Taveres, L., Hooks, J., Pegelow, M., Slater, M., Hughes, K. & Salute, M. (2003). Prevalence and Risk Factors for Heartworm Infection in Cats From Northern Florida [resumo] [versão electrónica]. *Journal of the American Animal Hospital Association* Volume 39, pp 533-537 (2003) Acedido em Jan. 20, 2010, disponível em: <http://www.jaaha.org/cgi/content/abstract/39/6/533>
- Levy, J. (2007a). Cats Versus Heartworms: How Real Is The Threat? [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, Jan. 13-27, 2007. Acedido em Jun. 9, 2010, disponível em: www.ivis.org/proceedings/navc/2007/SAE/353.asp?LA=1
- Levy, J:K. (2007b). Diagnostic Challenges in Feline Heartworm Infection [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, Jan. 13-27, 2007. Acedido em Jun 9, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/SAE/354.asp?LA=1>
- Levy, J:K. (2007c). Heartworm Treatments to Cats: Adulticides, Antibiotics, or Surgery? [versão electrónica]. In *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, Jan. 13-27, 2007. Acedido em Jun 9, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/SAE/355.asp?LA=1>
- Litster, A., Atkins, C., Atkins, C., Atwell, R. & Buchanan, J. (2005). Radiographic cardiac size in cats and dogs with heartworm disease compared with reference values using the vertebral heart scale method: 53 cases [versão electrónica]. *Journal of Veterinary Cardiology*, Volume 7, Issue 1, May 2005, pp. 33-40. Acedido em Jun. 13, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvc.2005.02.002>

- Litster, A., Atkins, C. & Atwell, R. (2008a). Acute death in heartworm-infected cats: unraveling the puzzle [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 158, Issue 3, 10 December 2008, pp. 196-203. Acedido em Abr. 3, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.007>
- Litster, A. & Atwell, R. (2008b). Feline heartworm disease: a clinical review [versão electrónica]. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, Volume 10, Issue 2, April 2008, pp. 137-144. Acedido em Jun. 13, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2007.09.007>
- Lorentzen, L. & Caola, A. (2008). Incidence of positive heartworm antibody and antigen tests at IDEXX laboratories: trends and potential impact on feline heartworm awareness and prevention [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 158, Issue 3, 10 December 2008, pp. 183-190. Acedido em Jan. 11, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.006>
- Luria, B., Levy, J., Lappin, M., Breitschwerdt, E., Legendre, A., Hernandez, J., Gorman, S. & Lee, I (2004). Prevalence of infectious diseases in feral cats in Northern Florida [versão electrónica]. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, Volume 6, Issue 5, October 2004, Pages 287-296. Acedido em April 15, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2003.11.005>
- Maggie, F., David, S. (2008). A review of the off-label use of selamectin (Stronghold®/Revolution®) in dogs and cats [versão electrónica]. *Acta Vet Scand*, Volume 50, Issues 1, 2008, pp 46. Acedido em Jul.11, 2010, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2612660/?tool=pubmed>
- Manfredi, M., Cerbo, A. & Genchi, M.(2007). Chapter 2: Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats. In Cringoli, G, *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. pp 41-45. Italy: Rolando Editore.
- Mar, P., Yang, I., Chang, G. & Fei, A. (2002). Specific polymerase chain reaction for differential diagnosis of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* using primers derived from internal transcribed spacer region 2 (ITS2) [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 106, Issue 3, 26 June 2002, pp. 243-252. Acedido em Jun. 11, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00032-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00032-8)
- Marcos-Atxutegi, C., Kramer, L., Fernandez, I., Simoncini, L., Genchi, M., Prieto, G. & Simóna, F. (2003). Th1 response in BALB/c mice immunized with *Dirofilaria immitis* soluble antigens: a possible role for *Wolbachia*? [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology* Volume 112, Issue 1-2, 28 February 2003, pp. 117-130 Acedido em Jun.. 19, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00419-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00419-3)
- McCall, J. (2005). The safety-net story about macrocyclic lactone heartworm preventives: A review, an update, and recommendations [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 133, Issues 2-3, 24 October 2005, Pages 197-206. State of the Heartworm (AHS Sumposium 2004) - Proceedings of the 11th Triennial Symposium of the American Heartworm Society 2004. Acedido em Jun. 9, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.005>
- McCall, J., Genchi, C., Kramer, L., Guerrero, J., Dzimiński, M., Supakorndej, P., Mansour, A., McCall, S., Supakorndej, N., Grandi, G. & Carson, B. (2008). Heartworm and *Wolbachia*: Therapeutic implications [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 158, Issue 3, 10 December 2008, pp. 204–214. Acedido em Abr. 3, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.008>

- McTier, T., Shanks, D., Watson, P., McCall, J., Genchi, C., Six, R., Thomas, C., Dickin, S., Pengo, G., Rowan, T. & Jernigan, A. (2000). Prevention of experimentally induced heartworm (*Dirofilaria immitis*) infections in dogs and cats with a single topical application of selamectin [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 91, Issues 3-4, 23 July 2000, pp. 259-268. Acedido em Mar. 14, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00297-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00297-1)
- Miller, M. (1998). Feline dirofilariasis [versão electrónica]. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, Volume 13, Issue 2, May 1998, pp. 99-108. Acedido em Jul. 19, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1096-2867\(98\)80014-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1096-2867(98)80014-5)
- Miller, M., Atkins, C., Stemme, K., Robertson-Plouch, C. & Guerrero, J. (2000). Prevalence of exposure to *Dirofilaria immitis* in cats in multiple areas of the United States [versão electrónica]. *Veterinary therapeutics*, Volume 1, Nov. 2000. Acedido em Mar. 15, 2010, disponível em: http://www.vetproductforum.com/Media/PublicationsArticle/VTX_01_03_169.pdf
- Morchón, R., Ferreira, A., Martín-Pacho, J., Montoya, A., Mortarino, M., Genchi, C. & Simón, F. (2004). Specific IgG antibody response against antigens of *Dirofilaria immitis* and its *Wolbachia* endosymbiont bacterium in cats with natural and experimental infections [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 125, 2004, pp. 313–321. Acedido em Jun. 30, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.08.003>
- Morchón, R., Roca, F., López-Belmonte, J., Genchi, M., Venco, L., Rodríguez-Barbero, A. & Simón, F. (2007a). Changes in the levels of eicosanoids in cats naturally and experimentally infected with *Dirofilaria immitis* [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 147, Issues 3-4, 20 July 2007, pp. 271-275. Acedido em Abr. 17, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.04.010>
- Morchón, R., Bazzocchi, C., López-Belmonte, J., Martín-Pacho, J., Kramer, L., Grandi, G. & Simón, F. (2007b). iNOs expression is stimulated by the major surface protein (rWSP) from *Wolbachia* bacterial endosymbiont of *Dirofilaria immitis* following subcutaneous injection in mice [versão electrónica]. *Parasitology International* Volume 56, 2007, pp 71-75. Acedido em Abr. 17, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2006.10.003>
- Morchón, R., Moya, I., González-Miguel, J., Montoya, M., Simón, F. (2010). Zoonotic *Dirofilaria immitis* infections in a province of Northern Spain. [versão electrónica]. *Epidemiology and infection*, Volume 138, Issue 3, Mar. 2010, pp. 380-393. Acedido em Jun. 19, 2010, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19619388>
- Muro, A., Genchi, C., Cordero, M. & Simón, F. (1999). Human Dirofilariasis in the European Union [versão electrónica]. *Parasitology Today*, vol. 15, Issue 9, 1 September 1999, pp. 386-389. Acedido em Jul. 10, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S01694758\(99\)01496-9](http://dx.doi.org/10.1016/S01694758(99)01496-9)
- Narine, K., Brennan, B., Gilfillan, I. & Hodge, A. (1999). Pulmonary presentation of *Dirofilaria immitis* (canine heartworm) in man [versão electrónica]. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, Volume 16, Issue 4, 1 October 1999, pp. 475-477. Acedido em Jul. 11, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1010-7940\(99\)00240-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1010-7940(99)00240-7)

- Nelson, T., Seward, R., McCall, J., Rubin, S., Buzhardt, L., Graham, W., Longhofer, S., Guerrero, J., Robertson-Plouch, C., Paul, A. & Carithers, D. (2007) Guidelines for the diagnosis, prevention and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in cats [versão electrónica]. American Heartworm Society. Acedido em Jan. 11, 2010, disponível em: <http://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/feline-guidelines.html>.
- Nelson, T. (2008). *Dirofilaria immitis* in Cats: Anatomy of a Disease [versão electrónica]. CE Article 1. Compendium. Volume 30, Issue 7, July 2008. Pp: 382-389. Acedido em Jul. 29, 2010, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18825638>
- Nogami, S., Murasugi, E., Shimazaki, K., Maeda, R., Harasawa, R. & Nakagaki, K. (2000). Quantitative analysis of microfilarial periodicity of *Dirofilaria immitis* in cats [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 92, Issue 3, 1 October 2000, pp. 227-232. Acedido em Jul. 10, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00285-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00285-5)
- Nuchprayoon, S., Junpee, A., Nithiuthai, S., Chungpivat, S., Suvannadabba, S. & Poovorawan, Y. (2006). Detection of filarial parasites in domestic cats by PCR-RFLP of ITS1 [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 140, Issues 3-4, 10 September 2006, pp. 366-372. Acedido em Jun. 3, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.04.003>
- Olsen, J. (2006). Imidacloprid plus moxidectin topical solution - a novel therapeutic for ectoparasitic diseases in dogs and cats [versão electrónica]. In International Congress of the Italian Association of Companion Animal Veterinarians, Rimini, Italy, May 19-21, 2006. Acedido em Abr. 15, 2010, disponível em: http://www.ivis.org/proceedings/scivac/2006/olsen1_en.pdf?LA=1.
- Payne, P., Carter, G. (2005). Internal Parasitic Diseases of Dogs and Cats [versão electrónica]. In A Concise Guide to Infectious and Parasitic Diseases of Dogs and Cats, Ithaca, NY, Set. 23, 2005. Acedido em Mar. 14, 2010, disponível em: http://www.ivis.org/special_books/carter/carter6/chapter.asp?LA=1
- Pereira da Fonseca, I., Madeira de Carvalho, L., Carvalho, S. & Carvalho-Varela, M. (1991). Prevalência da dirofilariose na população canina portuguesa. I. Detecção de microfilárias sanguíneas. *Vet. Técnica* Set/Out 1991. pp. 36-38.
- Peribáñez, M., Lucientes, J., Arce, S., Morales, M., Castillo, J. & Gracia, M. (2001). Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Acanthocheilonema dracunculoides* microfilariae by staining with a commercial kit, Leucognost-SP® [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 102, Issues 1-2, 3 December 2001, pp. 173-175. Acedido em Jul. 4, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00516-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00516-7)
- Prieto, C., Venco, L., Simón, F. & Genchi, C. (1997). Feline heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection: detection of specific IgG for the diagnosis of occult infections [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 70, Issue 4, 1 July 1997, pp. 209-217. Acedido em Jun. 20, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00008-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00008-3)
- Prieto, G., Simón, F., Genchi, C., McCall, J. & Venco, L. (1999). Utility of adult antigens of *Dirofilaria immitis* for the early detection of dirofilariosis and for the evaluation of chemoprophylactic treatment in experimentally infected cats [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 86, Issue 1, 15 September 1999, pp. 5-13. Acedido em Jun. 5, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(99\)00116-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00116-8)

- Rawlings, C., Farrel, R., & Mahood, R. (2008). Morphologic changes in the lungs of cats experimentally infected with *Dirofilaria immitis* [resumo][versão electrónica]. Journal of Veterinary Internal Medicine, Volume 4, Issue 6, 5 Feb. 2008, pp. 292–300. Acedido em Jun. 7, 2010, disponível em: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/120714843/abstract>
- Roncalli, R., Yamane, Y. & Nagata, T. (1998). Prevalence of *Dirofilaria immitis* in cats in Japan [versão electrónica]. Veterinary Parasitology, Volume 75, 1998, pp. 81-89. Acedido em Jan. 20, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00194-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00194-5)
- Rozanski E. (2008). How I treat Feline Asthma [versão electrónica]. In Proceeding of the SEVC Southern European Veterinary Conference, Barcelona, Spain, Oct. 17-19, 2008. Acedido em Jul. 3, 2010, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/sevc/2008/rozan3.pdf>
- Selcer, B., Newell, S., Mansour, A. & McCall, J. (1996). Radiographic and 2-D echocardiographic findings in eighteen cats experimentally exposed to *D. immitis* via mosquito bites [resumo] [versão electrónica]. Veterinary Radiology & Ultrasound. Volume 37 Issue 1, pp. 37-44. Acedido em Jun. 2, 2009, disponível em: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/119223811/abstract?CRETRY=1&SRETRY=0>
- Setúbal Península digital (2010) [versão electrónica] acedido em Agosto 10. 2010, disponível em: www.setubalpeninsuladigital.pt
- Simón, F., Prieto, G., Morchón, R., Bazzochi, C., Bandi, C. & Genchi, C. (2003). Immunoglobulin G Antibodies against the Endosymbionts of Filarial Nematodes (*Wolbachia*) in Patients with Pulmonary Dirofilariasis [versão electrónica]. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, Volume 10, Issue 1, January 2003, Pages 180-181. Acedido em Abril 15, 2010, disponível em: <http://cvi.asm.org/cgi/content/full/10/1/180>
- Simón, F., López-Belmonte, J., Marcos-Atxutegi, C., Morchón, R. & Martín-Pacho, J. (2005). What is happening outside North America regarding human dirofilariasis? State of the Heartworm (AHS Symposium 2004) - Proceedings of the 11th Triennial Symposium of the American Heartworm Society 2004. Veterinary Parasitology. Volume 133, Issues 2-3, 24 October 2005, pp. 181-189. Acedido em Jul. 10, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.03.033>
- Simón, F., Kramer, L., Morchón, R. & Genchi, C., (2007a) Chapter 6: A possible role for *Wolbachia* in the diagnosis of *Dirofilaria* infections. In Cringoli, G, *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections*. pp 75-80. Italy: Rolando Editore.
- Simón, F., Kramer, L., Román, A., Blasini, W., Morchón, R., Marcos-Atxutegi, C., Grandi, G. & Genchi, C., (2007b). Immunopathology of *Dirofilaria immitis* infection [versão electrónica]. *Veterinary Research Communications*, Volume 31, pp 161-171. Acedido em Jun. 30, 2010, disponível em: <http://www.springerlink.com/content/g8233j58u20q1509>
- Simón, F., Morchón, R., Rodríguez-Barbero, A., López-Belmonte, J., Grandi & G., Genchi, C. (2008). *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia*-derived antigens: Its effect on endothelial mammal cells [versão electrónica]. Veterinary Parasitology, Volume 158, Issue 3, 10 December 2008, pp. 223-231. Acedido em Abr. 3, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.010>

- Simón, F., Morchón, R., González-Miguel, J., Marcos-Atxutegi, C. & Siles-Lucas, M. (2009). What is new about animal and human dirofilariosis? [versão electrónica]. *Trends in Parasitology*, Volume 25, issue 9, Sept 2009, pp. 404-409. Acedido em Jul. 19, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt2009.06.003>
- Six, R., Sture, G., Thomas, C., Clemence, R., Benchaoui, H., Boy, M., Watson, P., Smith, D., Jernigan, A. & Rowan, T. (2000). Efficacy and safety of selamectin against gastrointestinal nematodes in cats presented as veterinary patients [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 91, Issues 3-4, 23 July 2000, pp. 321-331. Acedido em Jun. 4, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00302-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00302-2)
- Small, M., Atkins, C., Gordon S., Birkenheuer, A., Booth-Sayer, M., Keene, B., Fujii, Y. & Miller, M. (2008). Use of a nitinol gooseneck snare catheter for removal of adult *Dirofilaria immitis* in two cats [resumo] [versão electrónica]. *Journal of the American Veterinary Medical Association* November 1, 2008, Vol. 233, No. 9, pp. 1441-1445. Acedido em Jun. 14, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.2460/javma.233.9.1441>
- Smith, J., Scott-Moncrieff, J. & Rivers, B. (1998). Pneumothorax secondary to *Dirofilaria immitis* infection in two cats [resumo] [versão electrónica]. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, volume 213, issue 1, 1 Jul. 1998, pp. 91-93. Acedido em Jun. 4, 2010, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9656031>
- Snyder, P., Levy, J., Salute, M., Gorman, S., Kubilis, P., Smail, P. & George, L. (2000). Performance of serologic tests used to detect heartworm infection in cats [resumo] [versão electrónica]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. March 1, 2000, Vol. 216, No. 5, pp. 693-700. Acedido em Mar. 22, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.2460/javma.2000.216.693>
- Stewart, V., Hepler, D., Grieve, R. (1992). Efficacy of milbemycin oxime in chemoprophylaxis of dirofilariasis in cats. [versão electrónica]. *American journal of veterinary research*, Volume 53, Issues 12, Dec. 1992, pp. 2274-2277. Acedido em Jun. 30, 2010, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1476307>
- Strickland, K. (1998) Canine and Feline Caval Syndrome [versão electrónica] *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, Volume 13, Nº2, May 1998, pp 88-95. Acedido em Jun. 9, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1096-2867\(98\)80012-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1096-2867(98)80012-1)
- Taylor, M., Makunde, W., McGarry, H., Turner, J., Mand, S. & Hoerauf, A. (2005). Macrofilaricidal activity after doxycycline treatment of *Wuchereria bancrofti*: a doubleblind, randomised placebo-controlled trial [versão electrónica]. *The Lancet*, Volume 365, Issue 9477, 18 June 2005, pp. 2116 - 2121, Acedido em Jun. 19, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66591-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66591-9)
- Theis, J. (2005). Public health aspects of dirofilariasis in the United States [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 133, issue 2-3, 24 October 2005, pp. 157-180. Acedido em Jul. 3, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.007>
- Tuzio, H., Edwards, D., Elston, T., Jarboe, L., Kudrak, S., Richards, J. & Rodan, I. (2005). Feline zoonoses guidelines from the American Association of Feline Practitioners [versão electrónica]. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, Volume 7, Issue 4, August 2005, pp. 243-274. Acedido em Jun. 10, 2009, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2004.11.001>

- Venco, L., (2007) Chapter 9: Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in cats. In Cringoli, G, *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections*. pp 75-80. Italy: Rolando Editore.
- Venco, L., Genchi C., Genchi M., Grandi G. & Kramer, L. (2008a). Clinical evolution and radiographic findings of feline heartworm infection in asymptomatic cats [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 158, Issue 3, 10 December 2008, pp. 232-237. Acedido em Jun. 30, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.011>
- Venco, L., Mortarino, M., Carro, C., Genchi, M., Pampurini, F. & Genchi, C. (2008b). Field efficacy and safety of a combination of moxidectin and imidacloprid for the prevention of feline heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection [versão electrónica]. *Veterinary Parasitology*, Volume 154, Issues 1-2, 14 June 2008, pp. 67-70. Acedido em Abr. 17, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.02.020>
- Weil, G. (1987). *Dirofilaria immitis*: Identification and partial characterization of parasite antigens in the serum of infected dogs [resumo][versão electrónica]. *Experimental Parasitology*, Volume 64, Issue 2, October 1987, pp 244-251. Acedido em Jun. 13, 2010, disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0014-4894\(87\)90149-4](http://dx.doi.org/10.1016/0014-4894(87)90149-4)
- Yin, Y., Martin, J., McCarter, J., Clifton, S., Wilson, R. & Mitreva, M. (2006). Identification and analysis of genes expressed in the adult filarial parasitic nematode *Dirofilaria immitis* [versão electrónica]. *International Journal for Parasitology*, Volume 36, Issue 7, June 2006, pp. 829-839. Acedido em Jul. 10, 2010, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2006.03.002>

Anexos

Anexo 1 – Capa do dossier entregue nas clínicas que participaram no “Projecto Sado”



Anexo 2 – Apresentação e informação do projecto aos veterinários reponsáveis pelas clínicas que entraram no projecto

PROJECTO SADO -O PORQUÊ DO PROJECTO:

Em determinadas zonas do nosso país, nomeadamente no Estuário do Sado (Distrito de Setúbal e Alcácer do Sal) a prevalência da dirofilariose canina chega atingir os 51%. Esta doença é bem conhecida da população Médico-veterinária e até os proprietários se encontram sensibilizados para realizar a sua prevenção e pesquisa em casos de sintomas clínicos compatíveis. Estudos realizados em alguns países confirmaram que em zonas endémicas de Dirofilariose canina, a prevalência desta doença em gatos também é elevada (cerca de 5-10% da verificada em cães). Infelizmente, apesar do mesmo parasita infectar o gato e poder até resultar na morte do mesmo, esta patologia passa despercebida. Provavelmente, tal facto deve-se em parte aos sintomas clínicos no gato serem completamente diferentes dos manifestados pelo cão e não serem reconhecidos pelo Médico Veterinário, sendo possivelmente muitas vezes confundido com, por exemplo, a asma felina devido à sintomatologia respiratória em ambas as patologias. Assim sendo, pensamos que é importante clarificar a situação da prevalência da dirofilariose felina no nosso país e sensibilizar os colegas e proprietários para esta patologia e sua prevenção.

A American Heartworm Society tem desempenhado um papel extremamente activo da divulgação desta doença nos gatos. Em 2005 elaborou as recomendações relativas à dirofilariose felina aconselhando que seja realizada uma prevenção da dirofilariose a partir das 8 semanas de idade a todos os gatos que vivam numa zona endémica (www.heartwormsociety.org). Até há muito pouco tempo não se encontravam disponíveis testes que nos permitissem realizar o diagnóstico da dirofilariose no gato, uma vez que estes animais possuem uma carga parasitária muito baixa, sendo os testes existentes para o cão ineficientes na detecção do parasita. Neste momento já existe um teste fidedigno, mais sensível, para a detecção de antígenos de dirofilaria em gato.

Mais-valias para a clínica/hospital ao entrar no projecto:

Directas

- Ser reconhecida como clínica colaboradora num projecto de investigação da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, recebendo um certificado de participação oficial;
- Oferecer um serviço diferenciado, permitindo o diagnóstico de Dirofilariose felina de forma gratuita aos seus pacientes, tal como apoio em termos de divulgação da doença;
- Oferecer adicionalmente o despiste de FIV e FeLV;

- Para um grupo restrito de pacientes, existe a possibilidade de realizar a prevenção da Dirofilariose Felina de forma gratuita durante 6 meses;

Indirectas

- Contribuir para o conhecimento sobre a prevalência destas doenças no nosso país.

Este é um projecto que nos entusiasma e esperamos ter conseguido motivar-vos para realizarem esta parceria que pensamos benéfica para ambos e sobretudo para os nossos pacientes. Desde já agradecemos a participação de todos que será fundamental para alcançar os objectivos pretendidos. Tem à sua disposição um e-mail (dirofilariose@gmail.com) e contactos móveis (Ana Mafalda: 913012959; Carla Almeida: 969226281) que poderão utilizar para qualquer dúvida relacionada com o projecto.

Fases dos Projecto

O projecto consiste em 2 fases, com objectivos independentes mas interligadas:

1. ESTUDO PREVALÊNCIA DE DIROFILARIA, FELV FIV EM ZONAS PRÉ-DETERMINADAS

Gatos de zonas endémicas irão ser testados para antígeno de Dirofilaria e FeLV e anticorpo de FIV e dirofilariose.

Esta fase deverá estar concluída até 15 de Maio.

2 ESTUDO DE CAMPO SOBRE A EFICÁCIA DA SELAMECTINA (STRONGHOLD®) NA PREVENÇÃO DA DIROFILARIOSE FELINA

Alguns dos gatos testados que apresentem testes negativos na primeira fase iniciarão imediatamente um esquema de prevenção mensal com selamectina (Stronghold®) e serão novamente testados 6 meses mais tarde. No caso dos animais com testes positivos a utilização ou não da selamectina nestes animais dependerá do médico veterinário assistente, consentimento dos donos e estado clínico do animal. Se esta for realizada, os animais serão monitorizados para efeitos adversos apresentados e novamente testados mais tarde para avaliar se erradicaram os parasitas.

Que gatos podem entrar no projecto (critérios de inclusão)?

- Gatos com mais de 6 meses independentemente do estilo de vida.

Enquanto médico veterinário assistente, o que necessito de fazer?

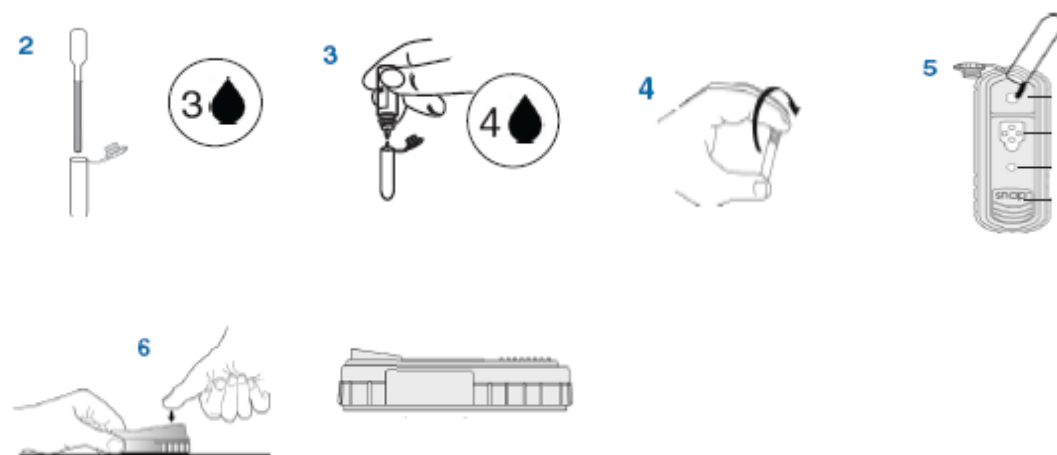
1. Realizar ou fornecer o inquérito ao proprietário do animal;
2. Colher 2,5ml de sangue ao gato;
3. Realizar o Kit da Idexx de acordo com as instruções (gasta-se 3 gotas de sangue);
4. Realizar a separação do soro e guardar o mesmo no congelador devidamente identificado dentro dos tubos eppendorfs fornecidos;
5. Anotar os resultados na tabela fornecida.
6. Fornecer todos os dados recolhidos e material no fim do estudo.

Gostava de dedicar um dia na clínica/hospital ao rastreio gratuito destas doenças nos meus pacientes, poderiam ajudar-me a organizá-lo?

Temos todo o prazer em ajudar na organização deste dia, podendo um de nós deslocar-se à clínica e ajudar nas colheitas e divulgação/esclarecimento desta doença junto dos proprietários. Temos experiência na realização deste tipo de iniciativas que são normalmente muito bem recebidas pelos proprietários e um dia bem passado pela equipa!

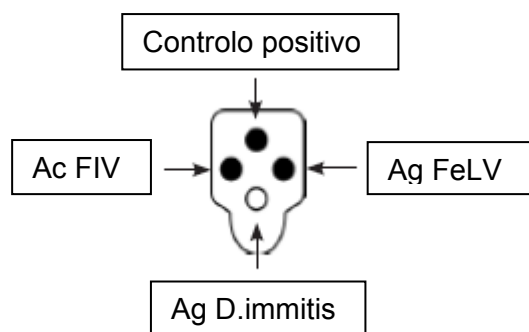
Como realizar o teste?

1. Colocar o Kit e a solução de teste (frasco com líquido azul-“conjugado”) à temperatura ambiente (15-30°C) cerca de 30 minutos antes de realizar o teste. Não aquecer!
2. Com a pipeta do Kit, verter 3 gotas do sangue num tubo novo dos fornecidos com o kit;
3. Adicionar 4 gotas do frasco com líquido azul (“conjugado”) no tubo já com as 3 gotas de sangue, mantendo-o sempre na posição vertical;
4. Fechar cuidadosamente o tubo e agitar lentamente, invertendo-o 3-5 vezes;
5. Colocar o Kit sobre uma superfície horizontal. Verter todo o conteúdo do tubo (sangue + “conjugado”) no pocilho da amostra tendo o cuidado de não derramar; A amostra fluirá até à janela de resultados, alcançando o círculo de activação em aproximadamente 30-60 segundos.
6. Assim que aparecer cor no círculo de activação, pressionar o activador com firmeza;
7. Analisar os resultados passados 10 minutos.



Interpretação dos resultados do teste:

Resultado positivo – qualquer aparecimento de cor nos locais da amostra indica a presença de Anti-corpo para FIV, Antígeno para FeLV ou Dirofilaria na amostra.



Resultado negativo – apenas se produz cor no local de controlo positivo.



Resultados inválidos – quando se produz uma cor de fundo que dificulta a interpretação dos resultados; quando não aparece nenhuma cor no local de controlo.

Em caso de dúvida por favor contacte-nos (dirofilariose@gmail.com).

Anexo 3 - Panfleto entregue aos proprietários dos animais testados para a DFel

Sinais clínicos mais comuns:

- ⇒ Letargia
- ⇒ Anorexia
- ⇒ Perda de peso / má condição corporal
- ⇒ Dispneia / taquipneia persistente (respiração ofegante, com boca aberta)
- ⇒ Tosse intermitente
- ⇒ Vômito intermitente não relacionado com as refeições
- ⇒ Sinais neurológicos (Ataxia, Convulsões, Síncope, Colapso)
- ⇒ Morte súbita

Sintomas inespecíficos... doença não é facilmente reconhecida, tem uma natureza insidiosa e grave...importante o **teste de diagnóstico**

Porque o meu veterinário nunca testou o meu gato para esta doença?

→ Só agora existe a possibilidade de testar os gatos de uma maneira fiável para esta parasitose



Adaptado de: <http://www.idexx.com>

Existe tratamento para a Dirofilariose?

Sim, existe tratamento, no entanto este é algo complexo e dispendioso e não é isento de riscos para o animal.

Em contrapartida, a prevenção é relativamente simples...

Dirofilariose felina:

- Elevado risco de infeção
- Elevada mortalidade
- Resultado imprevisível de infeção

Assim, a profilaxia é o único meio eficaz e seguro de proteger os gatos que vivem em áreas endémicas de Dirofilariose.

O melhor aconselhamento sobre o método preventivo a adoptar será sempre dado pelo seu médico veterinário, existindo no mercado produtos disponíveis com amplo espectro parasiticida.

Faça-lhe o rastreio e prevenção da Dirofilariose, diminuindo assim o risco para a Saúde do seu animal...

Dirofilariose Felina



Faculdade Medicina Veterinária
Universidade Técnica de Lisboa

O que é a Dirofilariose?

A Dirofilariose é uma doença crónica causada por um parasita da espécie *Dirofilaria immitis*, que se aloja no coração e nas artérias pulmonares de diversos animais. Pode atingir o cão e o gato.



Quais as zonas de maior risco?

Doença com elevada prevalência em Portugal, principalmente nas zonas do Estuário do Sado (Setúbal, Alcácer do Sal), Alentejo, Algarve e Madeira.



Adaptado de: www.portalmundonimal.com.br

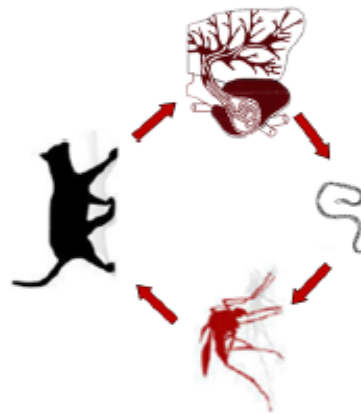
Pico de transmissão de Abril a Outubro.

Como se transmite?



A doença é disseminada pelos mosquitos (culicídeos).

Quando um mosquito pica um animal infectado, ingere a descendência do parasita, uma forma larvar imatura – microfilaria. Esta evolui para uma larva infectante, e na próxima picada vai entrar no corpo do animal. Aqui, migra até às artérias pulmonares e coração e instala-se até atingir o estado adulto e a maturidade sexual, que lhe permite reproduzir-se. A sua descendência, espalha-se então pela corrente sanguínea, pronta a reiniciar o ciclo através dos mosquitos.



Ciclo de vida da *Dirofilaria immitis*

Como é que a doença prejudica o seu gato?

Os gatos apresentam um nº reduzido de dirofilárias, no entanto, estas provocam uma infecção exuberante, muitas vezes fatal.



Dirofilaria immitis

As manifestações clínicas devem-se à presença dos parasitas nas artérias pulmonares e variam, desde a ausência de sintomas, a sintomas transitórios, até graves distúrbios cardiopulmonares com comprometimento respiratório para toda a vida - Doença respiratória associada à Dirofilariose.



Anexo 4 - Termo de responsabilidade e certificado de autorização para assinatura dos proprietários dos animais testados para a DFel

Termo de Responsabilidade e Certificado de Autorização

Eu, _____, proprietário/a do felino “_____”, autorizo a sua participação no Projecto Sado, atestando ter sido informado/a das condições do mesmo.

____ de _____ de _____

(assinatura do proprietário)

Anexo 5 - Inquérito distribuído aos proprietários dos animais testados para Dfel

Dirofilariose Felina

* Required

Nome do proprietário *

Nome do animal *

1. Raça *

- ☐ Europeu comum
- ☐ Persa
- ☐ Siamês
- ☐ Bosques da Noruega
- ☐ Outra

2. Idade *

- ☐ 6 meses - 1 ano
- ☐ 1 - 4 anos
- ☐ mais de 4 anos

3. Sexo *

- ☐ Fêmea inteira
- ☐ Fêmea esterilizada
- ☐ Macho inteiro
- ☐ Macho castrado

4. O seu animal já alguma vez reproduziu? *

- ☐ Sim
- ☐ Não

5. Área de proveniência *

Concelho

6. Habitat do seu animal: *

escolha apenas uma das opções

- ☐ sempre foi doméstico, nunca teve acesso ao exterior
- ☐ doméstico, mas tem ou já teve acesso ao exterior
- ☐ sempre foi exclusivamente de exterior (quintal,...)
- ☐ errante (gato de rua)

7. Tem mais animais em casa? *

- ☐ Sim - Gato
- ☐ Sim - Cão
- ☐ Não

7.1 Algum destes animais possui alguma destas doenças: FIV, FeLV ou Dirofilariose?

- ☐ Sim
- ☐ Não

7.1.1 Se sim, qual?

- ☐ FIV (vírus da imunodeficiência felina)
- ☐ FeLV (vírus da leucemia felina)
- ☐ Dirofilariose

8. O seu animal faz algum tipo de desparasitação externa? *

- ☐ Sim
- ☐ Não

8.1. Se sim, qual?

- ☐ Selamectina (Stronghold®)
- ☐ Imidaclopride (Advocate®)
- ☐ Outro

8.2. Com que frequência o desparasita?

- ☐ Mensalmente
- ☐ 3-3 meses
- ☐ 6-6 meses
- ☐ Anualmente

9. O seu animal está vacinado para a leucemia felina (FeLV)? *

- ☐ Sim
- ☐ Não
- ☐ Não sei

10. Fiv, Felv, Diro *

- ☐ Fiv +
- ☐ Fiv -
- ☐ Felv +
- ☐ Felv -
- ☐ Diro +
- ☐ Diro -

Obrigada pela sua colaboração!

nota: A preencher pelo proprietário

Anexo 6 - Folha de resultados do teste SNAP® Feline Triple®

Nome do proprietário: _____

Nome do animal: _____

Resultados do teste de diagnóstico:

	Fiv	Felv	Dirofilariose (Ag)
Kit idexx			

Preencher tabela com os seguintes símbolos:

(+) – positivo

(-) - negativo



Nome do proprietário: _____

Nome do animal: _____

Resultados do teste de diagnóstico:

	Fiv	Felv	Dirofilariose (Ag)
Kit idexx			

(+) – positivo; (-) – negativo



(Médico Veterinário)